



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap

Ko och kalv tillsammans

En studie av sårhäkning, smärtl beteenden och tillväxt hos mjölkkraskalvar som får gå med sin mamma

Cow and calf together

A study of wound healing, pain behaviours and growth in milk breed calves housed with their mother

Josefin Molin Björkdahl

*Uppsala
2020*

Ko och kalv tillsammans

En studie av sårhäkning, smärtbeteenden och tillväxt hos mjölkkraskalvar som får gå med sin mamma

Cow and calf together

A study of wound healing, pain behaviours and growth in milk breed calves housed with their mother

Josefin Molin Björkdahl

Handledare: Hanna Eriksson, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Biträdande handledare: Gabriel Isheden, Institutionen för medicinsk epidemiologi och biostatistik, Karolinska Institutet

Examinator: Karin Östensson, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Kursansvarig institution: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2020

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: sårhäkning, avhoring, beteende, ko-kalv

Key words: wound healing, dehorning, behaviour, cow-calf

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens utfodring och vård

SAMMANFATTNING

Frågeställningen i den här studien var om sårhäkning och uppvisande av smärtrelaterade beteenden efter avhorning påverkas av sociala faktorer. Sammanlagt 9 försöks- och 13 kontrollkalvar avhornades när de var 2,5–6 veckor gamla. Försökskalvarna hölls med sin mamma, i grupp tillsammans med de andra försökskalvarna och deras mammor. Kontrollkalvarna hölls i ensamboxar. I samband med avhorning mättes och fotograferades alla kalvars avhorningssår och dessa följdes sedan upp med nya mätningar och foton en gång per vecka under 4 veckor. Kalvarna observerades även vid 2, 4, 6, 24 och 48 timmar efter avhorning, varvid smärtrelaterade beteenden registrerades. De smärtrelaterade beteenden som mättes var huvudskakningar och huvudnuggningar. Kalvarnas dagliga tillväxt från 1 dag innan till 3 dagar efter avhorning noterades även med avsikt att undersöka om skillnad mellan försöks- och kontrollgruppen förelåg.

Genomgång av litteratur på området visar att stimulans och social interaktion kan påverka sårhäkning positivt. Andra studier har visat att ökad smärta i samband med avhorning på kalvar ger minskad tillväxt.

I den här studien sågs skillnader i sårhäkning mellan försöks- och kontrollkalvar ($p < 0,001$) och försökskalvarna läkte sina sår snabbare. Vid tidpunkterna 6 respektive 48 timmar efter avhorning fanns även skillnader i antal huvudskakningar ($p < 0,001$ resp. $p = 0,007$) och det observerades överlag ett ökat antal huvudnuggningar i kontrollgruppen, även om ingen statistiskt säkerställd skillnad kunde fastställas. Ingen skillnad i tillväxt i samband med avhorningen kunde uppmätas mellan grupperna i den här studien.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate whether wound healing and pain related behaviours after dehorning is affected by social factors. In total 22 calves were studied during the time around dehorning, when they were 2.5–6 weeks old. They were given two treatments, cow and calf kept together ($n = 9$) in a group with other calf-mother pairs and calves kept in individual pens ($n = 13$). Immediately after dehorning, the wounds were measured which was followed up by new measurements once a week for 4 weeks, and the size of each wound was compared to the size it had directly after dehorning. Each time, photographs of each wound were also taken. At 2, 4, 6, 24 and 48 hours after dehorning, behavioural pain related responses were also recorded. The pain behaviours recorded were head shakes and head rubbing. Daily growth, from one day before to three days after dehorning, was also recorded to evaluate if the two treatments could affect growth differently.

Previous studies have showed that stimulating factors and social interaction can affect wound healing in rodents in a positive way, and that increased pain associated with dehorning decreases daily growth.

In this study, there was a difference in wound healing between the two treatment groups, and the calves kept together with their mothers had a faster wound healing ($p < 0.001$). There were also differences between the average number of head shakes that the two groups performed. Calves that had access to their mother performed less head shakes at 6 and 48 hours after dehorning ($p < 0,001$ and $p = 0,007$). Generally, there were also a larger number of head rubs among calves that were individually housed, but no statistical difference could be measured in this study. No differences in growth in connection with the dehorning could be measured between the groups.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Inledning.....	1
Litteraturoversikt.....	2
Att hålla ko och kalv ihop.....	2
Olika former av ko–kalvinhysning.....	2
Fördelar och utmaningar.....	2
Smärta och stress.....	3
Kalvars smärtbeteenden.....	4
Avhorning.....	4
Sårläkning.....	5
Sårläkning efter avhorning.....	6
Sociala faktorerers inverkan på sårläkning.....	6
Kalvars tillväxt.....	8
Material och metoder.....	9
Djur och urval.....	9
Grupper.....	9
Behandling.....	10
Inhysning och skötselrutiner.....	10
Avhorning.....	11
Observationer.....	11
Sårläkning.....	11
Smärtrelaterade beteenden.....	12
Tillväxt.....	12
Databehandling.....	13
Sårläkning.....	13
Smärtrelaterade beteenden.....	13
Tillväxt.....	13
Statistiska metoder.....	13
Sårläkning.....	13
Smärtrelaterade beteenden.....	14
Tillväxt.....	15
Resultat.....	16
Sårläkning.....	16
Deskriptiva resultat.....	16
Hypotestestning.....	16
Sårbedömning.....	17
Deskriptiva resultat.....	17
Smärtrelaterade beteenden.....	18
Deskriptiva resultat.....	18
Övriga observationer.....	21
Hypotestestning.....	21
Tillväxt.....	22
Deskriptiva resultat.....	22
Hypotestestning.....	22
Diskussion.....	23
Sårläkning.....	23
Smärtrelaterade beteenden.....	25
Tillväxt.....	26
Populärvetenskaplig sammanfattning.....	27
Referenser.....	30

Bilaga 1. Sammanställning av parvis matchade försöks- och kontrollkalvar vid analyser av sårläkning	i
Bilaga 2. Gruppernas förändring av sårdiameter efter avhorning.....	ii
Bilaga 3. Individuell förändring av sårdiameter efter avhorning	v
Bilaga 4. Jämförelse av huvudskakningar I de fyra grupperna	vi
Bilaga 5. Sammanställning av smärtbeteenden	vii
Bilaga 6. Sammanställning av procentuell daglig tillväxt.....	viii

INLEDNING

Avhorning är ett rutiningrepp som utförs på kalvar inom svensk mjölkproduktion med syfte att skapa en säkrare miljö för djur och människor. Tidigare forskningsstudier har undersökt smärtuttryck hos kalvar i samband med avhorning, och det finns idag belägg för att avhorning är associerat med såväl smärtrelaterade beteenden, som fysiologiska förändringar associerade till smärta. Dessa beteenden och fysiologiska markörer förekommer dock i lägre grad hos kalvar som vid ingreppet lokalbedövas och erhåller antiinflammatoriskt smärtstillande läkemedel (NSAID).

Inom svensk mjölkproduktion separeras kalven vanligtvis från sin mamma vid födseln, och i regel står den till en början i en ensambox för att senast vid åtta veckor flyttas till en gruppbox med andra kalvar av samma ålder. Avhorning brukar ske någon gång under kalvens första åtta levnadsveckor, och sker därmed antingen i en miljö där kalven är begränsad till att endast kunna se och höra andra kalvar, eller till en miljö där den vistas med andra jämnåriga kalvar, men utan sin mamma.

Då separation av ko och kalv kritiserats ur ett djurvälståndsperspektiv finns idag pågående projekt och forskning med mål att ta fram en modell för samhallande av ko och kalv inom mjölkproduktion, samt att kartlägga fördelar och utmaningar med produktionsformen. Intresset för ko–kalvhållning ökar i Europa och det vore därför intressant att se ifall denna typ av djurhållning påverkar sårhäkning och smärtrelaterade beteenden hos kalvar i samband med avhorning. Tidigare forskning på gnagare har visat att sociala relationer tycks kunna påverka sårhäkning positivt. I studier på hamster har snabbare sårhäkning uppmätts hos djur som får vistas med familjemedlemmar, jämfört med isolerade individer. Studier har även kunnat visa att sociala interaktioner mellan möss ger snabbare sårhäkning. I en studie där råttor tillfogades ett brännsår var sociala interaktioner den faktor som påskyndade sårhäkning mest, medan individer som hölls socialt isolerade i en miljö utan berikning läkte långsammast.

I den här studien undersöktes hur kalvars uppvisade smärta, samt sårhäkning efter avhorning, påverkades av kalvens tillgång till sociala interaktioner med sin mamma, andra kalvar och deras mammor. Försökskalvar som hölls i grupp, med sin mamma och andra ko–kalvar, fram till fyra månaders ålder jämfördes med kalvar som separerades vid födseln och hölls i ensamboxar. Samtliga kalvar avhornades när de var 2–6 veckor gamla. Kalvarna undersöktes med avseende på sårhäkning och smärtrelaterade beteenden. Då smärta kan påverka foderintag negativt mättes även kalvarnas dagliga tillväxt från dagen innan avhorning till tre dagar efter avhorning.

Studiens hypoteser var att kalvarna som hade möjlighet att interagera med sin mamma och andra individer i mindre grad skulle uttrycka smärtrelaterade beteenden efter avhorning, samt ha en snabbare sårhäkning jämfört med kontrollkalvarna. Vidare att, till följd av mindre upplevd smärta, deras tillväxt möjligen inte skulle påverkas negativt av avhorning, i lika stor uträkning som kontrollkalvarnas.

LITTERATURÖVERSIKT

Att hålla ko och kalv ihop

Inom mjölkproduktion separeras vanligen kalven från kon inom några timmar efter födseln. Kors och kalvars naturliga beteende att dia och umgås förhindras därmed. Naturligt avvänjs kalvarna vanligen kring 8–11 månaders ålder – dessförinnan diar de ca 4–5 gånger per dygn (Lidfors, 1991; Reinhardt *et al.*, 1986)

Inom modern mjölkproduktion ges den nyfödda kalven råmjölk ofta i nappflaska eller med sond, och utfodras därefter vanligen med mjölk från napphink eller mjölkautomat. Det är vanligt att kalvarna först hålls ensamma i box inomhus eller i kalvhydda utomhus. Ofta vänjs kalven av från mjölk vid ca 60 dagars ålder, och dessförinnan har grovfoder introducerats för att göra övergången smidig. Senast vid åtta veckors ålder flyttas kalvarna till gruppboxar. Där hålls de med andra individer i samma ålder, då sammanblandning av djur med olika ålder normalt undviks för att förhindra att smittor överförs från äldre till yngre djur. Separation vid kalvning gör att hållningen av kor och kalvar blir rationell, att smittspridning mellan djur av olika åldrar minskar, samt möjliggör individuell övervakning av varje kalv (Anderberg *et al.*, 2001).

Konsumenter i Sverige och övriga Europa har ett ökande intresse för djurvälstånd, samt en ökad efterfrågan på etiska djurprodukter (European Commission, 2015). Även vissa veterinärer och rådgivare inom lantbruket anser att en längre tids kontakt mellan ko och kalv är en av de viktigaste aspekterna när det gäller djurvälstånd inom mjölkproduktion (Ellingsen-Dalskau, 2016). Intresset för djurhållningsformen finns även hos lantbrukare, och forskning pågår runt om i världen kring hur den skulle kunna utvecklas och appliceras i storskalig mjölkproduktion. Det finns flera fördelar, men även utmaningar, beskrivna med djurhållningsformen (Johnsen *et al.*, 2016). I dagsläget används den främst småskaligt och representerar en mycket liten del av all mjölkproduktion i Sverige (Jonsson, 2019).

Olika former av ko–kalvinhysning

Det finns olika varianter av att hålla ko och kalv tillsammans. Skillnader i systemen är bland annat hur länge ko och kalv hålls tillsammans innan separationen, och ifall avvänjning utförs före eller i samband med denna (Johnsen *et al.*, 2016). Det finns även skillnader i hur stor tillgång till umgänge ko och kalv har. I vissa system tillåts fri kontakt, men det finns även varianter där ko och kalv hålls åtskilda halva dygnet, samt system där ko och kalv endast har kontakt vid digivning (ett till flera tillfällen per dygn). Slutligen tillkommer även varianter där kalven hindras att dia från kon under hela eller delar av dygnet, men tillåts att umgås med henne (Johnsen *et al.*, 2016; Krohn, 2001).

Fördelar och utmaningar

Genom mätningar och observationer av kalvar som hållits med tillgång till sin mamma har för- och nackdelar med systemet kartlagts. Kalvarna utför färre stereotypa beteenden kopplade till otillfredsställt sugbehov (Broom, 1982). Kalvar som får dia sin första levnadsmånad är som vuxna yngre men tyngre vid inkalvning, och har högre mjölkavkastning i sin första laktation jämfört med förstakalvare som separeras från sin mamma vid födseln (Bar-Peled *et al.*, 1997; Krohn, 2001). I en studie av Fröberg *et al.* (2008) jämfördes juverhälsa hos kor som både diats

och maskinmjölkats med kor som endast maskinmjölkats. I studien sågs lägre celltal hos de kor som både diats och mjölkats med maskin. Kalvar som fått gå med sin mamma i två veckor efter födseln visade i en studie av Flower och Weary (2001) högre social kompetens i möten med en ny kalv. De tog snabbare kontakt och ägnade sig i högre uträkning åt sociala interaktioner, jämfört med kalvar som separerats från sin mamma vid födseln. I en studie av Wagner *et al.* (2015) visades att mjölkraskalvar som gått med sin mamma (och andra ko-kalvpar) under de 12 första veckorna hade bättre förmåga att hantera stress i vuxen ålder, då kortisolnivåer vid en stressfull situation var lägre och även återgick fortare till normala nivåer. Kontrollgruppen bestod av kor som hållits separerade från sin mamma sedan födseln, men som hållits i grupp med andra kalvar. I studien exponerades korna för främmande föremål, och kor som hållits med sin mamma närmade sig föremålet snabbare och undersökte det i högre utsträckning än kor i kontrollgruppen.

Utmaningar med en produktion där kalven tillåts gå med kon under delar av hennes laktation har beskrivits i tidigare studier. Flower och Weary (2001) undersökte beteenden hos kalvar som separerades direkt efter födseln med kalvar som separerades efter fjorton dagar. Separationen vid 14 dagar utgjorde troligen en större social utmaning, då kalvar som separerades vid två veckors ålder hade ökad frekvens av stressrelaterade beteenden i samband med separationen, jämfört med kalvar som separerades omedelbart vid födseln. Kon stod mer, idisslade mindre, samt vokaliserade mer då separationen utfördes efter två veckor, medan kalven åt och drack mindre, vokaliserade mer, stod mer och lekte mindre (Flower & Weary, 2001).

Ytterligare utmaningar ses vid avvänjningen, eftersom kalvar som diat under en längre period generellt växer sämre under avvänjningsperioden jämfört med kalvar som vuxit upp utan sin mamma. I en studie av Bar-Peled *et al.* (1997) jämfördes bland annat tillväxt hos kalvar som fått dricka mjölk från en fostermamma de första sex veckorna med kalvar som utfodrats med mjölkersättning. Mellan sex veckor och fram till avvänjning vid åtta veckor fick alla kalvar mjölkersättning. Kalvarna som fått dia hade högre tillväxt fram till avvänjning vid åtta veckors ålder, men fyra veckor efter avvänjning hade kalvarna som fått dia en signifikant lägre kroppsvikt än kalvarna som utfodrats med mjölkersättning. Dock uppmättes vid ålder för första dräktighet återigen högre kroppsvikt hos djuren som fått dia som kalvar; detta trots att de var något yngre än de djur som utfodrats med mjölkersättning.

En ekonomisk utmaning med ko–kalvhållning är att kor som dias ger en lägre mängd säljbar mjölk, till följd av att kalven dricker en andel av det hon producerar (Mendoza *et al.*, 2010). Det finns även studier som hävdar att kor som diar sin kalv har ett sämre mjölknedsläpp vid maskinmjölkning, vilket bidrar till den lägre mjölkavkastningen (Fröberg *et al.*, 2008).

Smärta och stress

Smärta är en fundamental stressfaktor som förändrar en rad fysiologiska parametrar i kroppen. En viktig reaktion till följd av smärta är stimulans av hypotalamus, vilket aktiverar den så kallade HPA-axeln (hypotalamus, hypofys, binjure-axeln). Stressutlösande stimuli leder till en frisättning av corticotropin-releasing factor (CRF) från hypotalamus, vilket verkar på hypofysen som i sin tur frisätter adrenokortikotrop hormon (ACTH). Målorganet för ACTH är binjuren, som svarar med produktion av kortisol (Harris, 1948). Kortisol har receptorer i stora

delar av kroppen och påverkar homeostas där de mest uttalade effekterna ses på glukoneogenes, inflammation och immunförsvar, med ökad glukoneogenes, minskad inflammation samt nedreglering av immunförsvaret som följd (Griffin, 1989).

Efter avhorning stiger plasmakortisolnivåerna som svar på en aktivering av HPA-axeln, då ingreppet inducerar stress genom smärta (Faulkner & Weary, 2000; McMeekan *et al.*, 1998). På grund av att smärtstimuli aktiverar HPA-axeln används kortisol ofta som markör för postoperativ smärta efter avhorning (McMeekan *et al.*, 1998; Stafford & Mellor, 2011; Sylvester *et al.*, 1998).

Kalvars smärtbeteenden

Som komplement till mätningar av fysiologiska parametrar kopplade till smärta går det även att mäta beteenden som individer uttrycker vid smärta. Vilka beteenden som uttrycks beror på typ av smärta, samt dess lokalisering och intensitet. Beteenden som associeras med smärta i samband med avhorning är bland annat vokalisering, öronviftningar, huvudskakningar, huvudgnuggningar, pressande av huvudet mot föremål samt ovilja att låta sig klappas på huvudet (Faulkner & Weary, 2000; Graf & Senn, 1999; Stafford & Mellor, 2011). Tidsperioden då kalven uppvisar beteendena varierar med åldern på kalven, metod för avhorning samt olika studiedesign. I Faulkners och Wearys (2000) studie mättes smärtrelaterade beteenden vid olika tidpunkter efter avhorning. Efter sex timmar sågs en skillnad i antal huvudskakningar och öronviftningar, men ej i antal huvudgnuggningar, mellan kalvar som fått och inte fått NSAID. I en studie av Heinrich *et al.* (2010) undersöktes smärta i samband med avhorning och effekten av att använda NSAID i samband med ingreppet. Öronviftningar och huvudskakningar var 6 timmar efter avhorningen mer frekvent hos kalvar som ej fått smärtlindring i form av NSAID. I studien sågs dock inte någon skillnad i antal huvudgnuggningar hos kalvar med varierande grad av smärtlindring.

För att vidare utreda upplevd smärta hos djur finns olika beteendetester som kan avgöra djurets sinnesstämning. Genom att jämföra hur ett djur presterar före och efter ett förmodat smärtsamt ingrepp kan ingreppets inverkan på djurets sinnesstämning mätas. I en studie av Neave *et al.* (2013) testades kalvars känslomässiga respons på avhorning. Ett test utformades där kalvarna, för att belönas med mjölk, skulle trycka på en knapp när en viss färg (röd) visades på en skärm. En annan färg (vit) gav istället en strafftid, där kalven inte fick tillgång till mjölk under en minut om den tryckte på knappen. Efter en initial träningsperiod då kalvarna lärde sig testförfarandet introducerades tvetydiga färger (olika nyanser av rosa), och kalvarna behövde bedöma sannolikheten att färgerna skulle ge belöning eller straff. Kalvarna utförde testen före, samt 6 och 22 timmar efter avhorning. I studien observerades att kalvarna efter avhorning var mer negativt inställda och i större utsträckning trodde att tvetydiga färger innebar straff än vad de gjort vid test innan avhorning. Författarna ansåg att resultaten gav belägg för att kalvar vid 6 och 22 timmar efter avhorning påverkas emotionellt av smärta och blir pessimistiskt inställda.

Avhorning

Avhorning är ett rutiningrepp på svenska mjölkgårdar och sker vanligtvis med brännjärn under kalvens två första levnads månader. Kor av raser som används inom mjölkproduktion föds i regel med anlag att utveckla horn och avhornas därför, för att minska skaderisken för djur och

människor. De smärtrelaterade beteenden som kan iakttas efter avhorning kvarstår åtminstone 24 timmar efter ingreppet, och vissa studier har uppmätt ökad frekvens av smärtrelaterade beteenden längre än så (McMeekan *et al.*, 1998; Sylvestre *et al.*, 1998).

Vid avhorning i Sverige sederas kalvarna vanligtvis, varefter de lokalbedövas och får en injektion med ett NSAID (Non-Steroid Antiinflammatory Drug) för att minska postoperativ smärta. I Sverige är det idag lagstadgat att lokalbedöva alla kalvar vid avhorning (SFS 2019:66). Inför bränning klipps eller rakas pälsen runt hornanlagen, som skärs av med skalpell. Därefter anläggs brännjärn mot sårytan under ca 10–15 sekunder.

Ett antal studier har gjorts om kalvens upplevelse av avhorning. Mycket fokus ligger på kalvens smärtupplevelse, och huruvida olika typer av smärtlindring ger effekt på kalvens upplevda smärta. Försök har visat att kalvar i högre grad smärtrelaterade beteenden om de avhornas utan smärtlindring, men att lokalbedövning har effekt och minskar smärtupplevelsen i samband med avhorning (Graf & Senn, 1999). Lokalbedövning har dock endast effekt i 2–4 timmar efter ingreppet (Faulkner & Weary, 2000), och då smärta i samband med avhorning kan hålla i sig betydligt längre än så täcker lokalbedövning således inte hela behovet av smärtlindring. Att komplettera med ytterligare smärtlindring, i form av NSAID-injektion i samband med avhorning, leder till en minskning i smärtrelaterade beteenden och serum-kortisol under de första 6 timmarna efter avhorning (McMeekan *et al.*, 1999). Även Heinrich *et al.* (2009) uppmätte lägre kortisolnivåer efter avhorning vid smärtlindring med NSAID i samband med ingreppet. I studien gjordes dock inga mätningar mellan 6 och 24 timmar. Efter 24 timmar uppmättes högre nivåer av kortisol i försöks- än i kontrollgruppen. Detta förklaras av författarna med att kontrollkalvarna hunnit habitueras till sin smärta, medan försökskalvarna som smärtlindrats med NSAID fick en fördröjd smärtupplevelse (Heinrich *et al.*, 2009).

I samband med avhorning utlöses även en stressreaktion till följd av hanteringen vid ingreppet (Boandl *et al.*, 1989). Genom att skenavhorna kalvar i studien kunde forskarna avgöra hur stor del av kortisolstegringen som var relaterat till smärta vid avhorningen. Resterande kortisolstegring bedömdes vara en följd av stress i samband med hantering vilket stod för ungefär 30 % av den sammanlagda kortisolstegringen som smärta och stress i samband med avhorning gav upphov till (Boandl *et al.*, 1989).

Sårläkning

Sår som uppstår vid avhorning med brännjärn klassas som brännsår. Ett brännsår karakteriseras av koagulationsnekros till följd av termisk eller kemisk energi (Funkquist *et al.*, 2012). Den normala sårläkningen kan delas in i en inflammationsfas, en nybildningsfas och en remodelerings-/mognadsfas (Funkquist *et al.*, 2012; Hübner *et al.*, 1996). Följande schematiska beskrivning av sårläkning förutsätter att sårläkningen inte drabbas av komplikationer.

Inflammationsfasen varar normalt i 1–4 dagar och initieras av vasokonstriktion samt trombocytaktivering för att stoppa blödning och uppnå hemostas. Därefter sker en lokal vidgning av närliggande kärl, ökad kapillärpermeabilitet, påverkan på neutrofiler som migrerar till såret samt frisättande av en rad tillväxtfrämjande faktorer. Målet är att rena såret från död vävnad och mikroorganismer. Nästa fas, nybildningsfasen, kännetecknas av regeneration av ny vävnad för att uppnå hållfasthet och skydd av såret. Under denna fas bildas granulationsvävnad i såret,

vilket vanligtvis kan ses efter ca 3–5 dagar. Under nybildningsfasen växer nya kärl in i såret, såret börjar kontrahera och nytt epitel växer in från kanterna för att täcka sårhålan. Den sista fasen, mognadsfasen, kan pågå i över ett år och tar vid när såret blivit epiteliserat. Under mognadsfasen återfår vävnaden mer och mer av sin ursprungliga struktur och hållfasthet (Funkquist *et al.*, 2012; Hübner *et al.*, 1996).

Sårläkning efter avhorning

Vävnadsåterhämtning efter avhorning sker enligt ovan nämnda principer för sårläkning. I en studie av Adcock *et al.* (2019) fotograferades och bedömdes sår efter avhorning med brännjärn, med avsikten att undersöka tidsförloppet för läkning. Tidförloppet bedömdes enligt följande kriterier: närvaro av nekrotiskt epitel efter bränning, nekrotiskt epitel efter bränning lossnar, suppuration, bildning av granulationsvävnad, sårskorpa, samt nytt epitel. I studien, som omfattade 48 kalvar, sågs nekrotisk vävnad från avhorningstillfället i ca 20 dagar efter avhorning. I genomsnitt tog det 54 dagar för såren att re-epiteliseras.

Potentiella komplikationer vid avhorning är sårinfektion, övergrepp på underliggande bihåla med bihåleinflammation som följd, samt kvarblivet hornanlag med felaktigt utväxande horn (Weaver, 1986).

Sociala faktorerers inverkan på sårläkning

I en studie av Detillion *et al.*, (2004) som utvärderade sambandet mellan stress, sårläkning och sociala interaktioner mättes sårläkning hos hamstrar. Studien undersökte sambandet mellan positiva sociala interaktioner och sårläkning. En av studiens hypoteser var att oxytocin skulle frisättas av att umgås med en individ som djuret hade preferenser till. Oxytocinet skulle i sin tur hämma frisättning av kortisol, vilket skulle göra att kortisol inte påverkade sårläkningen i lika hög utsträckning, och att såret på så vis skulle läka snabbare. Det finns tidigare forskning som visar att råttor som injicerats med oxytocin fick lägre kortisolnivåer efter injektionen (Petersson *et al.*, 1999). Detillion *et al.* (2004) tar upp kortisolpåverkan som något som sänker djurens immunförsvar och förlänger sårläkningen. För att testa hypotesen skapades fyra djurgrupper: (i) en med hamstrar som vistades med ett syskon, (ii) en med hamstrar som vistades med ett syskon och utsattes för stress, (iii) en med hamstrar som vistades ensamma, och slutligen (iv) en med hamstrar som vistades ensamma och utsattes för stress. Grupperna som utsattes för stress fick en stressande behandling genom fångsling i ett hanteringsrör. Behandlingen pågick två timmar om dagen i fjorton dagars tid. Därefter fick alla djuren ett kirurgiskt sår på ryggen under narkos. Hos stressade hamstrar som inte hade social kontakt med sitt syskon (iv) uppmättes sämre sårläkning jämfört med alla övriga grupper. Hos hamstrar som fick vistas med sitt syskon sågs däremot ingen skillnad i sårläkning mellan de som utsatts för stress (ii) och de som inte utsattes för stress (i). För att utvärdera kortisolets inverkan på sårläkningen utfördes ytterligare ett test: adrenoektomi på isolerade hamstrar, dels på djur som stressats genom fixering i hanteringsrör och dels på djur som inte stressats. Som kontrollgrupp fanns i försöket även hamstrar som endast skenopererades. Hos de djur som utsatts för stress, och som inte hade kvar binjuren (och som därmed inte kunde producera kortisol) läkte såret snabbare jämfört med kontrolldjuren som utsatts för stress men endast skenopererats. I ytterligare ett test gavs exogent oxytocin till isolerade hamstrar med ett kirurgiskt sår på ryggen, vilket ledde till snabbare sårläkning jämfört med kontrolldjur utan tillfört exogent oxytocin

(Detillion *et al.*, 2004). På motsvarande sätt försämrades sårhäkningshastigheten av tillförsel av en exogen oxytocinreceptorantagonist hos hamstrar med tillfogade sår, och som levde med ett kullsyskon. Detta stärkte hypotesen att oxytocinfrisättning bidrog till sårhäkning genom att hämma den endogena kortisolfrisättningen (Detillion *et al.*, 2004).

I en studie på kalvar undersöktes samband mellan diande och oxytocinfrisättning. Kalvar som gick med sin mamma och tilläts dia fick högre oxytocin- och lägre kortisolnivåer efter att de hade diat, jämfört med kontrollkalvarna som hölls skilda från mamman och drack mjölk från en hink (Lupoli *et al.*, 2001). Med tanke på att oxytocin tros minska kortisolens negativa inverkan på sårhäkning skulle detta kunna innebära att kalvar som får dia har kortare läkningstid efter avhorning jämfört med kalvar som hålls separat från korna.

I en studie, på möss, av Pyter *et al.* (2014) påvisades samband mellan social isolation och försämrad sårhäkning hos möss. I studien ingick en försöksgrupp där djuren hölls i grupp och en kontrollgrupp där de hölls isolerade. Båda grupperna tillfogades två kirurgiska sår dorsalt, under narkos. Såren fotograferades dagligen och bedömdes tills de var re-epitelialiserade, då de räknades som läkta. Möss som hölls isolerade läkte ca 30 % långsammare än de som hölls i grupp. Detta trots att de isolerade mössen hade lägre kortisolnivåer och initialt lägre bakterieförekomst i såren. Med tiden ökade dock bakterieantalet i såren hos de isolerade mössen, och blev högre än hos de grupphållna mössen, vilket tolkades som förändrat immunförsvar till följd av isolering. Forskarna sågs även att genuttryck som reglerar inflammation skiljde sig mellan isolerade och grupphållna möss. Slutsatsen var att social isolation, även i frånvaro av förhöjda plasmanivåer av kortisol, gav försämrad sårhäkning hos mössen i studien.

Vitalo *et al.* (2012) undersökte sambanden mellan sårhäkning, social isolering och miljöberikning hos råttor. De jämförde fyra grupper med avseende på sårhäkning efter brännsår. Brännsåret tillfogades råttorna på brösttryggen, genom att huden exponerades för hett (92°C) vatten i 8 sekunder. Råttorna vistades därefter antingen (i) i grupp utan berikande strömmaterial, (ii) ensam utan berikande strömmaterial eller (iii) ensam med berikande strömmaterial. I försöket sågs en skillnad i sårhäkning mellan grupperna; sårhäkningshastigheten var långsammast hos isolerade råttor utan miljöberikning (ii), medan isolerade råttor som fått sin miljö berikad med ström (iii) läkte intermediärt snabbt och råttor som fått vistas med en burkamrat (i) hade snabbast sårhäkning. I studien ansåg man sig påvisa stimulans som en faktor som påverkade sårhäkning, oberoende av om stimulansen kommer från sociala interaktioner eller miljöberikning.

I en studie av Engeland *et al.* (2012) undersöktes hos möss samband mellan social isolation och sårhäkning. Möss i tre olika boendeformer fick ett kirurgiskt sår mellan skulderbladen. En grupp där (i) djuren hölls i grupp, (ii) en grupp där de hölls ensam i samband med att såret tillfogades och (iii) en grupp där de hölls i ensamburor i tre veckor innan såret tillfogades, och därefter fortsatt ensamlevande. I samband med att såret tillfogades tillfördes även bakterier; samma bakteriemängd tillfördes alla sår. Mössen som hölls i grupp läkte fortare än de isolerade mössen och under studien adderades ytterligare bakterier till såren hos samtliga möss. Effekten blev att de grupphållna mössens sår accelererade sin läkning medan de isolerade mössens sår läkte i oförändrad takt.

I en studie av Hutson *et al.* (1979) beskrivs att saliv kan påskynda sårkontraktionen hos möss. Författarna föreslår att salivens innehåll av biologiskt aktiva substanser potentiellt främjar sårkontraktion. Mekanismerna uppges vara dels immunmodulerande, där vissa faktorer i saliven motverkar uppkomsten av sårinfektion, dels tillväxtfrämjande, där andra faktorer i saliven stimulerar tillväxten av nya hudceller.

Kalvars tillväxt

Under svenska förhållanden förväntas mjölkkraskalvar av raserna Holstein och SRB tillväxa med ca 1 kg per dag under sina tre första levnadsmånader (Kalvportalen, 2019). I en studie av Lupoli *et al.* (2001) jämfördes tillväxten hos kalvar som grupphölls, tillsammans med sin mamma, med tillväxten hos kalvar som hölls ensamma. Daglig vägning visade att kalvarna som gick i grupp, tillsammans med mamman, hade högre tillväxt. I studien togs även blodprov i samband med att kalvarna drack mjölk, vilket visade att de kalvar som diade från sin mamma hade högre nivåer av oxytocin. Tidigare studier har visat att oxytocin främjar tillväxten hos råttor (Björkstrand & Uvnäs-Moberg, 1996). Slutsatsen i Lupoli *et al.* (2001) var att hur kalven hölls och åt påverkade fysiologin kopplad till tillväxt, och att positiva effekter på tillväxt sågs vid digivning.

Högre tillväxttakt vid samhållning av kor och deras kalvar rapporteras också av Grøndal *et al.* (2007), där kalvar i Norge som hölls med sin mamma fram till 8 veckors ålder tillväxte med en takt på 0,9–1,3 kg, vilket var över snittet i inrapporterad data över kalvtillväxt i norska besättningar.

På grund av smärtpåverkan efter avhorning kan förväntas en temporär minskning i tillväxt, vilket stöds av Faulker och Weary (2000). De rapporterade att fyra till åtta veckor gamla kalvar som smärtlindrades med NSAID tillväxte mer (1,2 kg) under det första dygnet efter avhorning än kontrollgruppen (<0,2 kg) som avhornades utan postoperativ smärtlindring.

MATERIAL OCH METODER

Djur och urval

Försöket genomfördes på Lövsta försöksgård under protokoll C89/15. Mjölkbesättningen bestod av ungefär lika delar Svensk Holstein (SH) och Svensk röd och vit boskap (SRB). Avkomman från 12 försöks- och 12 kontrollkor inom projektet ko–kalv sommaren 2019 (dnr 5.8.18-19267/2017) utvärderades för användning i försöket. Samtliga kor kalvade mellan den 14/8 och 25/9 2019.

På grund av att kalvens immunitet kan påverka sårhäkningen inkluderades endast kalvar som var friska vid avhorningen och som hade totalprotein i serum >50 g/l. Detta utvärderades genom analys av totalprotein i serumprover 2–7 dagar efter födseln. Kalvar som fötts kulliga inkluderades inte i studien. Inledningsvis fanns 11 försöks- och 13 kontrollkalvar i projektet, men två försökskalvar utgick. En kalv hade otillfredsställande upptag av immunglobuliner (totalprotein i serum 43 g/l) och en kalv exkluderades då dess mamma utgick från försöket på grund av trauma. Inga kontrollkalvar behövde uteslutas ur studien.

Grupper

Djuren i försöket bestod av 9 försöks- och 13 kontrollkalvar (se Tabell 1). Försökskalvar och kontrollkalvar delades in i fyra grupper, beroende på födelsedatum. Den första gruppen bestod av 6 (1kullig) försökskalvar, som hölls inomhus i ett Voluntary Milking System (DeLaval Voluntary Milking System VMS™, Tumba, Sweden) tillsammans med sina mammor hela dygnet fram till ca 8 veckors ålder, och därefter med tillgång till mammorna under halva dygnet, fram till avvänjning vid ca 4 månaders ålder. Korna hade ständig tillgång till roboten och kunde välja att gå in och mjölkas samt äta kraft- och grovfoder. De valde sedan själva när de ville gå tillbaka till sin kalv. Grupp två bestod av 6 (2 utgick) försökskalvar som hölls med sina mammor utomhus. Korna hade ständig tillgång till att gå in och mjölkas i VMS och kunde när de ville gå tillbaka till sin kalv på betet, medan kalvarna bara hade tillgång till utevistelse. Rutinerna följde i övrigt försöksgruppen som hölls inomhus. Grupp 3 och 4 bestod av 7 (ett tvillingpar) respektive 6 kontrollkalvar som hölls ensamma i kalvhyddor från födseln fram till högst 8 veckors ålder. Kalvarna separerades från sina mammor då personalen upptäckte att de fötts, vanligtvis inom de första timmarna efter födseln. De avvandades då de uppnått en vikt på minst 90 kg.

Tabell 1. *De fyra grupper som ingick i studien*

	Försöksgrupp 1	Försöksgrupp 2	Kontrollgrupp 1	Kontrollgrupp 2
Benämning	VMS inne	VMS ute	Kontroll 1	Kontroll 2
Födelsedatum	14/8–28/8 2019	20/8–10/9 2019	2/9–9/9 2019	11/9–25/9 2019
Födelsevikt (medel ± SD)	43 ± 5 kg	38 ± 7 kg	37 ± 6 kg	42 ± 6 kg
Rasproportion	3 SRB / 2 SH	3 SRB / 1 SH	3 SRB / 4 SH	5 SRB / 1 SH
Antal kvigkalvar	3 st	3 st	4 st	3 st
Antal tjurkalvar	2 st	1 st	3 st	3 st
Datum för avhorning	13/9 2019	25/9 2019	7/10 2019	22/10 2019
Ålder vid avhorning (median ± IQR)	28 ± 10 dagar	25 ± 7 dagar	31 ± 4 dagar	31 ± 6 dagar
Antal kalvar brända med ”blomma” ¹	2	0	1	4

¹Avhornade med flera bränningar; en centrerad och flera runtom hornanlaget.

Behandling

Inhysning och skötselrutiner

Försökskorna kalvade utomhus i mobila kalvningsboxar (Mobilt vindskydd, Playmek, Röke, Sweden). De hölls med kalven i kalvningsboxen i 2–3 dygn för att underlätta att bilda starka band mellan ko och kalv. Under denna period togs kon från kalvningsboxen två gånger per dag och mjölkades i VMS. Kalvarna observerades med 1–2 timmars intervall, så individer som inte lyckats dia själva identifierades snabbt, och kalvar som hade svårt att hitta spenarna hjälptes till juvret. Ifall kon hade tecken på otillfredsställande halt av immunglobuliner i råmjölken (BRIX < 20 %, se Elsohaby *et al.*, 2017) flaskmatades kalven med råmjölk från en kvalitetssäkrad råmjölksbank. Om kalven inte ville dricka och magen var utspänd av mjölk lämnades den i en timme, och erbjöds därefter råmjölk i nappflaska igen. Svaga kalvar med insjunknen mage som inte ville dricka sondmatades med 3 l råmjölk vid första utfodringstillfället. Efter 2–3 dagar flyttade ko-kalvparen från kalvningsboxen, antingen till bete eller till lösdrift inomhus. Kalvarna i försöksgrupperna hade tillgång till en kalvgömma, en avskild plats dit korna inte kunde gå men som kalvarna hade fri tillgång till. I kalvgömman fanns vatten och foder (fri tillgång till kraft- och grovfoder) samt en torr och ren liggyta. Ingen ytterligare mjölk än den som de kunde dia från korna erbjöds. Om kor från betesgruppen tillbringade så mycket tid i VMS att kalvens näringsförsörjning äventyrades guidades de tillbaka till betet. Kor och kalvar i VMS ute flyttades in från bete vid betessäsongens slut (14/10), då kalvarna var 7–9 veckor gamla. Från en vecka efter inflytten (22/10) hölls kor och kalvar separerade under natten (kl. 19–07) och kalvarna var då hänvisade till att vistas i kalvgömman.

Kor i kontrollgruppen kalvade inomhus i kalvningsboxar. Kalvar till moderdjur med dålig råmjölkskvalitet (BRIX < 20 %) erbjöds 3 l fryst råmjölk av god kvalitet med nappflaska. Om kalven inte ville dricka och magen var utspänd av mjölk lämnades den i en timme, och erbjöds därefter råmjölk i nappflaska igen. Svaga kalvar med insjunknen mage som inte ville dricka sondmatades med 3 l råmjölk vid första utfodringstillfället. Kalvar i kontrollgrupperna flyttades därefter till kalvhyddor (Calf Tel Pro II, Holm & Laue GmbH & Co. KG Westerrönfeld, Tyskland) placerade utomhus. Kalvhyddorna stod i två rader med 18 hyddor i varje rad. Över

hyddorna fanns tak och varje hydda bestod av en betongyta med omgivande staket (220 x 122 x 138 cm) och en hydda i hårdplast (135 x 126 x 100 cm) placerad innanför staketet. Inne i hyddan fanns ströbädd av halm. Varje kalv hade tillgång till färskt vatten, grovfoder och kraftfoder. Kontrollkalvarna kunde se och höra andra kalvar och höra kor på närliggande beten, dock inte sina mammor. Kalvarna utfodrades med mjölk ur napphink två gånger om dagen, ca kl. 9 och 16.

Avhorning

Kalvarna avhornades då de var 2,5–6 veckor gamla, och avhorningen utfördes av samma person vid alla tillfällen. Kalvarna sederades med xylazin (Rompun vet., 20 mg/ml, Bayer) 1,5 ml/100 kg intramuskulärt, vid samma tillfälle smärtlindrades kalvarna även med en subkutan dos meloxicam (Metacam, 20 mg/ml, Boehringer Ingelheim Vetmedica) 2,5 ml/100 kg. Tio minuter senare lokalbedövades hornanlagen med en subkutan kvaddel om 3 ml xylocain med adrenalin (Lidokel adrenalin vet, Kela) ovanför n. cornuale och strax under crista temporalis. Innan avhorningen påbörjades maskinklipptes håret runt hornanlagen. Toppen på hornanlaget skars bort med en skalpell och varje kalv avhornades därefter direkt genom att ett brännjärn anlades mot hornanlaget under 10–15 sekunder. Kalvar vars storlek på hornanlaget översteg brännjärnets diameter avhornades med flera bränningar, en centrerad (10–15 sekunder) och flera runtom hornanlaget (3–4 sekunder vardera), så kallad ”blomma”.

I gruppen VMS inne avhornades kalvarna inomhus i kalvgömma. Kalvarna kunde själva gå ut till sina mödrar när de vaknade efter ingreppet, men korna kunde inte gå in till kalvarna. Kor och kalvar kunde se och höra varandra under hela proceduren.

I gruppen VMS ute genomfördes avhorningen ute i kalvgömma på bete. Kalvarna stängdes in ca kl. 06 samma morgon som avhorningen och avhornades ca kl. 11–12. Korna kunde vistas utanför kalvgömmen men inte gå in till kalvarna. Kor och kalvar kunde se och höra varandra under proceduren, såvida inte kon var inne i VMS. Kalvarna kunde själva gå ut till korna när de vaknade efter ingreppet.

Kontrollgrupperna avhornades inne i kalvhyddorna. De kunde se och höra andra kalvar samt kor ute på närliggande beten under proceduren, men inte sina mammor.

Observationer

Sårläkning

Sårstorlek mättes med ett elektroniskt skjutmått vid avhorningen, och därefter en gång per vecka i fyra veckor på osederade kalvar. En från samma grupp på tre personer utförde mätningarna vid de olika tillfällena. Observerade värden avrundades till hela millimeter. Sårstorlek vid de olika mättillfällena jämfördes med den ursprungliga sårstorleken.

Såren fotograferades även, både i samband med avhorning och vid samtliga mättillfällen. Alla fotografier bedömdes av samma person, och bedömningen gjordes på kodade fotografier så att bedömaren inte visste vilket foto som tillhörde vilken kalv. Fotografierna bedömdes med avseende på tecken på infektion, närvaro av nekrotiskt material i såret, om såret fått nytt epitel, sårkontraktion och om såret börjat se läkt ut. För att få bedömningen ”inget nekrotiskt material” behövde båda såren vara utan, för att få bedömningen ”nytt epitel” behövde minst ett av såren

ha fått nytt epitel, för att få bedömningen ”sårkontraktion” behövde minst ett av såren ha börjat kontrahera och för att få bedömningen ”nästan läkt” krävdes att båda såren bedömdes som nästan läkta (se beskrivning i Tabell 3).

Smärtrelaterade beteenden

Smärtrelaterade beteenden observerades av samma person på samtliga kalvar, och frekvensen huvudgnuggningar och huvudskakningar användes för att utvärdera smärta. Kalvar i VMS inne filmades och observationerna gjordes på det inspelade materialet. Detta för att möjliggöra att samma person kunde utföra alla observationer då observatören inte kunde vara på plats vid tillfället för den första avhorningen. Övriga kalvar kunde ej filmas av praktiska skäl då kameror ej kunde sättas upp på bete och i kalvhyddor på ett sådant sätt att kalvarna kunde filmas var de än befann sig, varför kalvarna i dessa grupper istället direktobserverades.

Huvudgnuggningar definierades som de gånger kalven gnuggade huvudet mot inredningen, mot andra individer, eller mot sitt eget bakben. Huvudskakningar definierades som de gånger huvudet vickades i sidled upprepade gånger (>3) i snabb takt. Antal huvudskakningar och huvudgnuggningar som utfördes mättes under tre minuter per tillfälle. Ursprungligen planerades att iaktta beteenden under fem minuter per tillfälle, men detta omöjliggjordes då kalvarna som filmades regelbundet försvann ur bild innan fem minuter passerat. Intervall för mätningar av smärtrelaterade beteenden bestämdes utifrån tidigare studier initialt till 2, 4, 6, 24, 48 och 72 timmar efter avhorning. De första kalvarna filmades och observationer gjordes på det inspelade materialet. Det noterades att majoriteten av alla kalvar sov vid 2 och 4 timmar. Dessa mätningar exkluderades därför ur materialet i alla fyra grupperna. Vid 48 och 72 timmar sågs ett mycket lågt antal smärtrelaterade beteenden. En ytterligare genomgång av studier på området visade att skillnader i uppvisade smärtrelaterade beteenden framförallt kunde ses de första 48 timmarna (Faulkner & Weary, 2000; C. McMeekan *et al.*, 1999; Morisse *et al.*, 1995). Därför beslutades att även exkludera mätningen vid 72 timmar från studien. Kalvar inom varje grupp observerades inte i någon förutbestämd ordning, utan den kalv som var närmast och/eller först inledde aktivitet (vaknade och reste sig upp) under varje observationstillfälle observerades först.

Tillväxt

Kalvarna vägdes varje vecka från födseln för att fastställa varje kalvs tillväxtkurva. Från en dag innan till tre dagar efter avhorningen vägdes kalvarna dagligen för att utvärdera om tillväxten direkt efter avhorning påverkades av mammans närvaro. Gruppen VMS ute vägdes ca kl. 07 på morgonen med en mobil våg (Kalvvåg PM200, BS Agro, Långserud, Sverige), gruppen VMS inne vägdes ca kl. 09 på en stationär våg (Balkvåg, Profilvågen, Vansbro, Sverige) och kontrollkalvarna vägdes ca kl. 09 med en mobil våg (Kalvvåg PM300, BS Agro, Långserud, Sverige). Låg genomsnittlig daglig tillväxt under en period innan avhorning användes som indikator för dålig hälsa, och kalvar som misstänktes vara sjuka innan avhorning exkluderades från försöket.

Databehandling

Sårläggning

Vid analyser av sårläggning slogs data från grupperna VMS inne och VMS ute ihop och behandlades som en försöksgrupp, och Kontrollgrupp 1 och Kontrollgrupp 2 slogs samman till en kontrollgrupp. Den procentuella förändringen av sår diameter (avrundat till hela millimeter) beräknades genom att vid varje mättillfälle jämföra genomsnittlig sår diameter på varje kalvs båda avhorningssår med ursprunglig genomsnittlig sårstorlek enligt formeln:

$$-\left(1 - \frac{\text{sår diameter vid mättillfället}}{\text{ursprunglig sår diameter}}\right) \times 100$$

Smärtrelaterade beteenden

Vid utvärdering av huvudskakningar behandlades grupperna VMS ute och VMS inne som separata grupper, då flugförekomsten var mycket högre i VMS än utomhus på betet. Närvaro av flugor har hos nötkreatur visats öka antalet huvudskakningar och andra beteenden som associeras med att hålla flugor borta (Dougherty *et al.*, 1993). Vid varje tidsintervall för observation summerades dessutom antalet huvudskakningar och huvudgnuggningar separat. Alla mätningar i intervallet summerades också för varje tidpunkt. En kontrollkalv exkluderades ur analysen av smärtbeteenden då den sov vid samtliga observationstillfällen.

Tillväxt

Även vid analyser av tillväxt slogs data från grupperna VMS inne och VMS ute ihop och behandlades som en försöksgrupp, och Kontrollgrupp 1 och Kontrollgrupp 2 slogs samman till en kontrollgrupp. Mellan försöks- och kontrollkalvar beräknades skillnad i sammanlagd relativ viktökning från avhorning till tre dagar efter ingreppet enligt formeln:

$$\frac{\text{vikt vid avhorning}}{\text{vikt dagen före avhorning}} - \left(\frac{\text{vikt tre dagar efter avhorning}}{\text{vikt vid avhorning}}\right)^{1/3}$$

Statistiska metoder

Sårläggning

För att pröva hypotesen att det skulle vara en skillnad i sårläggning mellan försöks- och kontrolldjur utfördes ett parat t-test, med signifikansnivån vald till $\alpha = 0,05$. Parvis matchning av försöks- och kontrollkalvar utfördes för att skillnader i ursprunglig sårstorlek inte skulle påverka resultatet. Kriteriet för matchning var att genomsnittlig ursprunglig sår diameter inte fick skilja mer än 2 mm inom paret. Parningen utfördes blindat med avseende på slutgiltig sårstorlek, och kontrollkalvar som inte matchades med någon försökskalv uteslöts från analysen. Beskrivning av den subgrupp av kalvar som användes i analyserna av sårläggning återfinns i Tabell 2. Se Bilaga 1 för en detaljerad beskrivning av de par som ingick i analyserna.

Tabell 2. Sammanställning av information av kalvarna som användes i analys av sårhäkning

	Försöksgruppen	Kontrollgruppen
Födelsedatum	14/8–10/9 2019	2/9–25/9 2019
Födelsevikt (medel)	38 ± 4 kg	40 ± 7 kg
Rasproportion	5 SRB / 4 SH	5 SRB / 4 SH
Antal kvigkalvar	6	5
Antal tjurkalvar	3	4
Ålder vid avhorning (median)	26 ± 10 dagar	29 ± 3 dagar
Antal brända med ”blomma” ¹	2	3

¹Avhornade med flera bränningar; en centrerad och flera runtom hornanlaget.

Initialt gjordes ett test med samtliga par inkluderade, och därefter utfördes ytterligare fyra test där olika par exkluderades.

I åtta av paren skiljde sig den genomsnittliga ursprungliga diametern ≤ 1 mm, medan kontrollkalven i ett par hade 2 mm större sår. För att utesluta att större sårdiameter i kontrollgruppen skulle påverka resultatet uteslöts detta par och det parade t-testet utvärderades på nytt.

Fyra veckor efter avhorning hade såren på alla individer utom två kontrollkalvar minskat i storlek. För att utvärdera ifall skillnader mellan grupperna berodde på ett fåtal djur med avvikande sårhäkning exkluderades de två par där kontrollkalvarna hade oförändrad eller större genomsnittlig sårdiameter fyra veckor efter avhorning, och det parade t-testet utvärderades på nytt.

I ytterligare ett test uteslöts alla par som hade utgått i båda de föregående testerna.

Slutligen gjordes ett test där par med kalvar som i serum hade totalproteinhalt 50–55 g/l uteslöts, för att utvärdera om resultatet påverkats av en bias i bristande råmjölkupptag mellan grupperna. Då riktningen och magnituden på resultaten inte skiljde sig mellan de olika testerna presenteras endast resultat från det test som inkluderade samtliga par. Bilaga 2 innehåller en sammanställning och figurer från resultaten i de övriga testerna.

Smärtrelaterade beteenden

Hypotesprövning för skillnader i frekvensen uppvisade smärtrelaterade beteenden mellan försöks- och kontrollkalvar gjordes med Welch's t-test, med signifikansnivån vald till $\alpha = 0,05$. Då multipla tester utfördes korrigerades α -värdet med Bonferroni Correction, och det nya signifikansvärdet som erhöles var $\alpha = 0,017$. I de statistiska testerna inkluderades alla försöks- och kontrollkalvar utom de som sov. De smärtbeteenden som testades var huvudskakningar och huvudgnuggningar, och de två beteendena testades separat. Hypotesprövning utfördes vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning. Endast i kontrollgruppen observerades viss aktivitet vid 2 timmar (en kalv vaken) och 4 timmar (tre kalvar vakna). Hos dessa kalvar sågs dock smärtrelaterade beteenden även vid dessa observationstillfällen.

För att undersöka om skillnader i beteenden mellan kalvarna i grupperna VMS inne och VMS ute kunde bero på skillnad i förekomst av flugor eller på individuell variabilitet, gjordes en grafisk utvärdering av skillnader i huvudskakningar och huvudnuggningar mellan dessa grupper och mellan grupperna Kontroll 1 och 2. Därefter utfördes ett Welch's t-test för skillnader i antal huvudskakningar mellan försökskalvar i VMS ute och kontrollkalvarna. I Bilaga 4 visas frekvensen huvudskakningar per grupp för båda VMS- och kontrollgrupperna.

Tillväxt

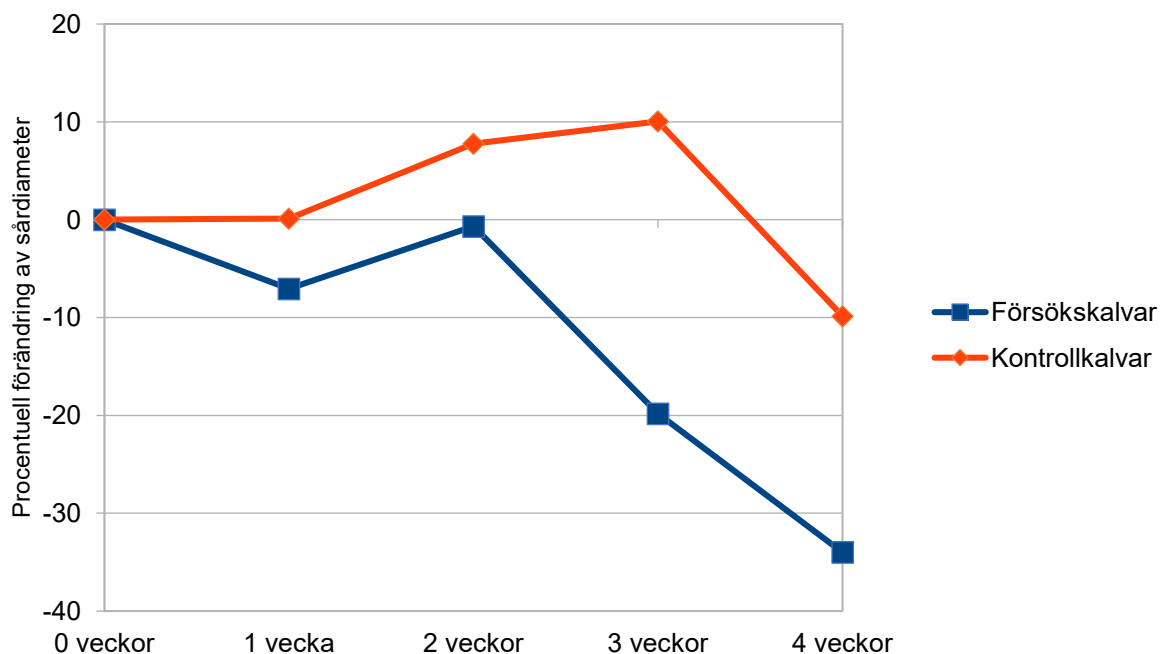
Hypotesprövning för skillnader i genomsnittlig daglig tillväxt från avhorning till tre dagar efter avhorning mellan försöks- och kontrollkalvar gjordes med Welch's t-test, med signifikansnivån vald till $\alpha = 0,05$. Samtliga försöks- och kontrollkalvar inkluderades i analysen.

RESULTAT

Sårläkning

Deskriptiva resultat

En vecka efter avhorning hade såren hos försökskalvarna börjat krympa, medan de kvarstod oförändrade hos kontrollkalvarna (se Figur 1). Efter två veckor sågs en viss ökning i sårdiameter hos både försöks- och kontrollkalvarna. Vid tre veckor hade försökskalvarnas sår börjat krympa, för att vid fyra veckor ha krympt i genomsnitt 34 ± 16 % av sin ursprungsdiameter. Tre veckor efter ingreppet sågs ingen generell sårkontraktion hos kontrollkalvarna, utan den allmänna trenden var att såren fortsatte att växa, dock i långsammare takt än vad de gjorde mellan 1–2 veckor. Först vid 4 veckor efter avhorningen hade kontrollkalvarnas sår minskat i storlek, i genomsnitt ca 10 ± 12 % av sin ursprungsdiameter.



Figur 1. Medelvärde för sårläkning från avhorning till fyra veckor efter avhorning. Mätningar en gång per vecka. Alla försökskalvar ($n=9$) och de kontrollkalvar ($n=9$) som de parades med i den statistiska analysen är inkluderade.

Efter fyra veckor hade fem av nio försökskalvar minskad sårdiameter med >40 %, hos fyra kalvar iakttogs en minskning med 29–35 %, och endast hos en kalv hade diametern minskat <29 % (se Bilaga 3). Ingen av de 13 kontrollkalvarna hade minskad sårdiameter >22 % fyra veckor efter avhorning, och två kalvar hade fortfarande sår som inte börjat kontrahera.

Hypotestestning

Nollhypotesen att ingen skillnad i minskning av sårdiametern efter fyra veckor förelåg mellan försökskalvar (34 ± 16 %) och kontrollkalvar (10 ± 12 %) kunde förkastas ($t(8) = -4,585$; $p = 0,002$).

Sårbedömning

Deskriptiva resultat

Bedömning av sårens utseende utifrån fotografier bekräftade resultaten från mätningarna av sårdiameter. En högre andel av försökskalvarna hade minst ett sår som börjat kontrahera efter tre respektive fyra veckor (55 resp. 78 %) jämfört med kontrollkalvarna (23 resp. 62 %) (se Tabell 3). En högre andel försökskalvar bedömdes även fått nytt epitel i minst ett av såren efter tre respektive fyra veckor (55 resp. 69 %) jämfört med kontrollkalvarna (38 resp. 67 %). Det var även en högre andel av försökskalvarna där båda såren som fick bedömningen ”nästan läkt” efter tre respektive fyra veckor (11 resp. 11 %) jämfört med kontrollkalvarna (0 resp. 0 %). Det var få sår som bedömdes visa tecken på sårinfektion: utav de 220 bilder som bedömdes var det fyra sår som fick denna kommentar. Efter avkodning framgick att ett av dessa fotografier var taget vid avhorningstillfället, och de tre andra var tagna vid tre till fyra veckor efter avhorning. I alla dessa sår sågs någon form av vätska i såret, men flera av bilderna var tagna i svagt ljus. Efter en vecka bedömdes 33 % av försökskalvar ej ha nekrotiskt material i något av sina sår, men motsvarande siffra är 0 % efter två veckor.

Tabell 3. Sammanställning av bedömning av bilder av kalvarnas avhorningsår. Såren fotograferades direkt efter avhorningen och därefter en gång per vecka i fyra veckor. Tabellen anger andel individer inom de två grupperna som fått respektive bedömning för något av sina sår

	Inget nekrotiskt material ¹	Börjat kontrahera ²	Nytt epitel ³	”Börjar se läkt ut/nästan läkt” ⁴
<i>1 vecka</i>				
Försök	33 %	0 %	0 %	0 %
Kontroll	0 %	0 %	0 %	0 %
<i>2 veckor</i>				
Försök	0 %	0 %	0 %	0 %
Kontroll	0 %	0 %	0 %	0 %
<i>3 veckor</i>				
Försök	55 %	55 %	55 %	11 %
Kontroll	23 %	23 %	38 %	0 %
<i>4 veckor</i>				
Försök	67 %	78 %	69 %	11 %
Kontroll	54 %	62 %	67 %	0 %

¹ Sårskorpa efter avhorning har fallit av på något av såren.

² Minst ett sår har börjat dra ihop sig och såret är inte längre cirkulärt.

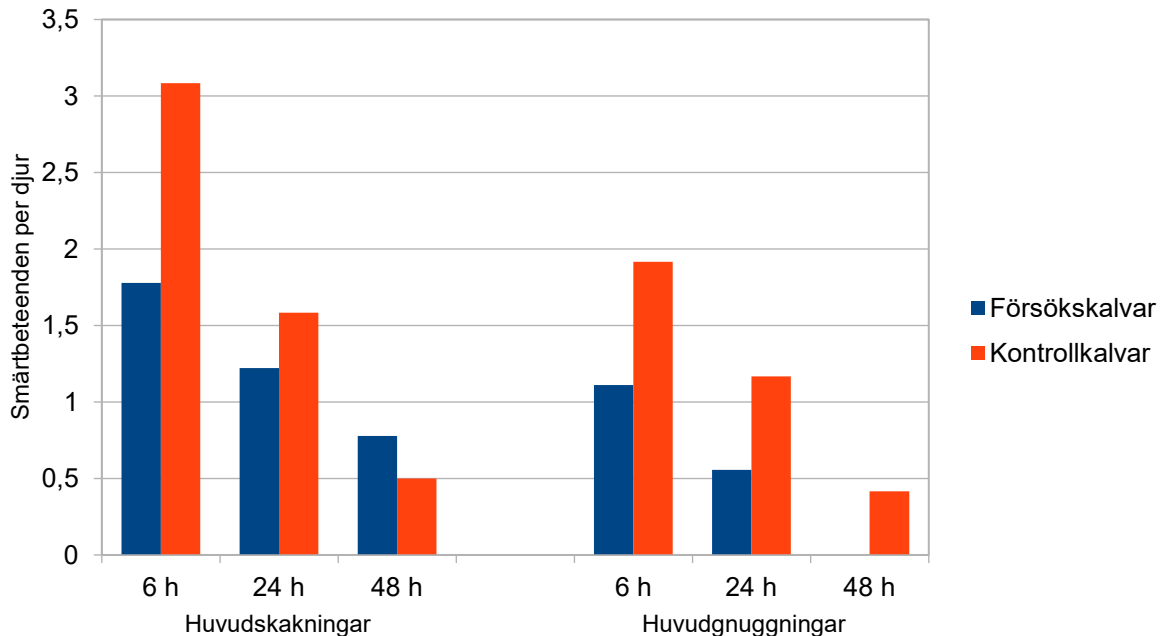
³ Från sårkanterna ses nytt epitel växa in i minst ett av såren.

⁴ Båda sår har kontraherat så mycket att de ej liknar de ursprungliga såren (är ovala), nytt epitel bekläder större delen av såren och inget nekrotiskt material kan ses i såren.

Smärtrelaterade beteenden

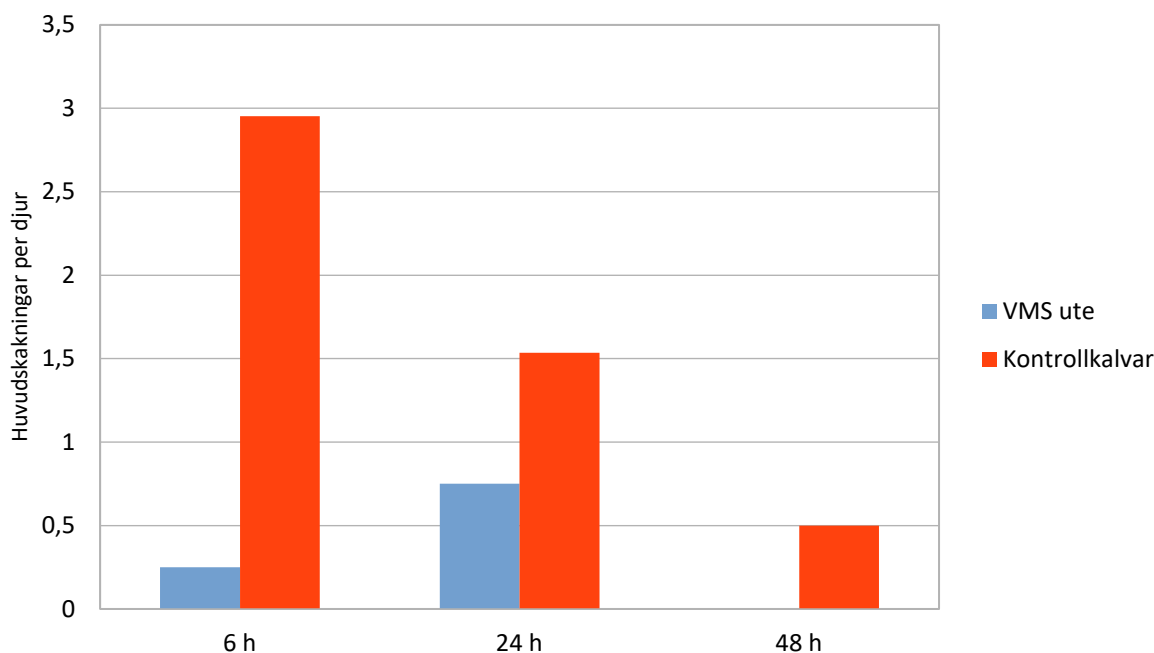
Deskriptiva resultat

Vid samtliga observationstillfällen iaktogs ett högre antal huvudnuggningar per djur hos kontrollkalvarna jämfört med försökskalvarna (se Figur 2). Frekvensen utförda huvudnuggningar per djur i försöksgruppen påverkades inte när gruppen VMS inne togs bort från dataserien.



Figur 2. Genomsnittlig frekvens av huvudskakningar och huvudnuggningar per djur hos försöks- ($n=9$) och kontrollkalvarna ($n=12$) vid 6, 24 och 48 timmar efter avhoring. Varje observationstillfälle varade 3 minuter per kalv.

Färre huvudskakningar per djur uppmättes för VMS ute jämfört med kontrollkalvarna vid 6, 24 och 48 timmar (se Figur 3). Detta skiljde sig från jämförelser av antal huvudskakningar mellan alla försökskalvar (både VMS ute och VMS inne) och kontrollkalvar, då frekvensen huvudskakningar hos försökskalvarna var högre än hos kontrollkalvarna endast vid 48 timmar (se Figur 2).



Figur 3. Frekvensen huvudskakningar per djur i VMS ute ($n = 4$) och hos kontrollkalvarna ($n = 12$), vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning. Varje observationstillfälle varade 3 minuter per kalv. VMS inne exkluderades på grund av hög förekomst av flugor i miljön.

Andel djur som iaktogs utföra huvudnuggningar varierade både mellan försöks- och kontrollkalvar och över tid (se Tabell 4). Liknande mönster iaktogs för huvudskakningar (se Tabell 5).

Tabell 4. Andel kalvar som utförde huvudnuggningar vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning

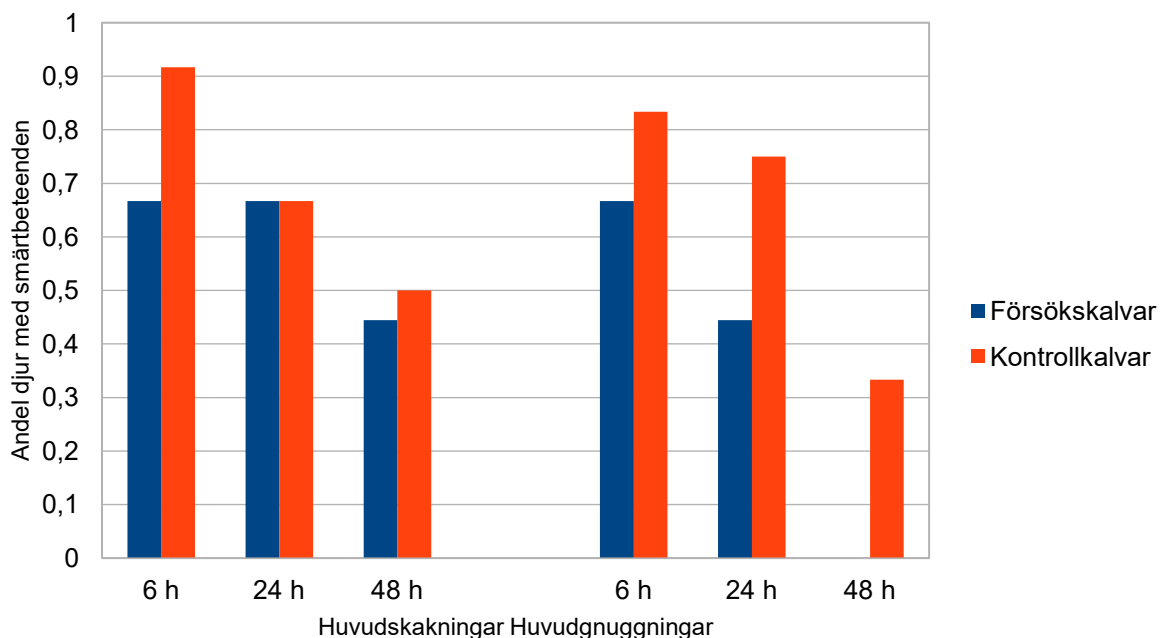
	6 h		24 h		48 h	
	Försök	Kontroll	Försök	Kontroll	Försök	Kontroll
5–6 huvudnuggningar	0 %	8 %	0 %	0 %	0 %	0 %
3–4 huvudnuggningar	11 %	16 %	0 %	0 %	0 %	8 %
1–2 huvudnuggningar	56 %	53 %	44 %	70 %	0 %	23 %
0 huvudnuggningar	33 %	23 %	56 %	30 %	100 %	69 %

Tabell 5. Andel kalvar som utförde huvudskakningar vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning. VMS inne exkluderades i denna jämförelse på grund av närvaro av flugor.

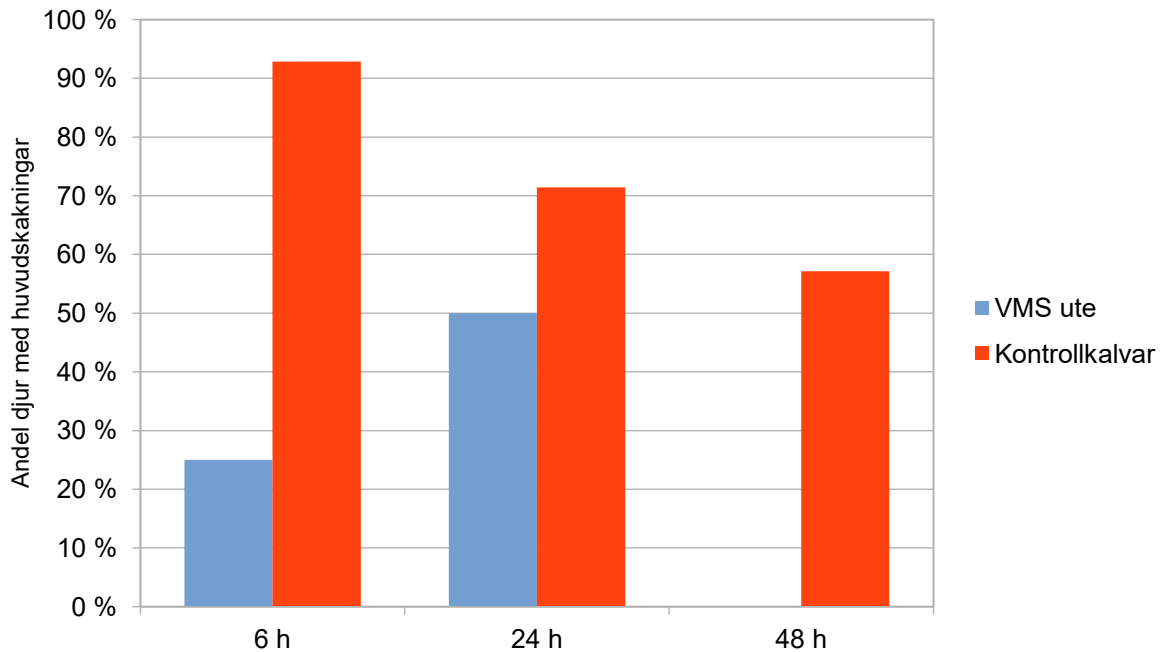
	6 h		24 h		48 h	
	VMS ute	Kontroll	VMS ute	Kontroll	VMS ute	Kontroll
5–6 huvudskakningar	0 %	16 %	0 %	8 %	0 %	0 %
3–4 huvudskakningar	0 %	31 %	0 %	15 %	0 %	8 %
1–2 huvudskakningar	25 %	31 %	50 %	30 %	0 %	46 %
0 huvudskakningar	75 %	22 %	50 %	47 %	100 %	54 %

Vid beteendeobservationer iaktogs generellt en större andel kontrollkalvar utföra smärtrelaterade beteenden. För huvudnuggningar gällde detta vid samtliga observationstillfällen (se Figur 4). Om VMS inne exkluderades från jämförelsen iaktogs detsamma även för huvudskakningar (se Figur 5). I Figur 4 illustreras fördelningen av andel djur som utförde huvudskakningar om VMS inne inkluderades i jämförelsen.

Jämförelser av andel kalvar som utförde smärtrelaterade beteenden *inom* försöksgrupperna (VMS inne och VMS ute) och kontrollgrupperna (Kontroll 1 och Kontroll 2) visade att genomsnittligt antal smärtbeteenden var liknande hos Kontroll 1 och Kontroll 2. För VMS inne och VMS ute var andelen djur som utförde huvudnuggningar och frekvensen huvudnuggningar per djur de utförde liknande, medan däremot båda motsvarande registreringar för huvudskakningar skiljde sig (se Bilaga 5).



Figur 4. Andel försöks- ($n=9$) och kontrollkalvar ($n=12$) som uppvisade huvudskakningar och huvudnuggningar vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning. Varje observationstillfälle varade 3 minuter per kalv.



Figur 5. Andel djur som uppvisade huvudskakningar vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning. Jämförelse mellan VMS ute ($n = 4$) och kontrollkalvar ($n = 12$). VMS inne exkluderade på grund av hög närvaro av flugor.

Övriga observationer

Vid observation av VMS ute sågs vid 6 timmar samtliga kor i ko-kalvparen slicka på kalvarnas avhorningssår. Kalvarna sökte upp sina mammor och buffade på dem. När mamman började slicka kalven, flyttade kalven på sig så att hon kom åt att slicka på avhorningssåren.

Hypotestestning

Med VMS inne exkluderade gav Welch's t-test, med korrigerad signifikansnivå $\alpha = 0,017$ signifikanta skillnader för frekvensen huvudskakningar vid 6 timmar (försökskalvar: $0,3 \pm 0,4$, kontrollkalvar: $3,1 \pm 1,8$; $t(13,504) = -4,983$; $p < 0,001$) och 48 timmar (försökskalvar: $0 \pm 0,0$, kontrollkalvar: $0,5 \pm 0,5$; $t(11) = -3,317$; $p = 0,007$). Vid 24 timmar kunde inte någon skillnad säkerställas (försökskalvar: $0,8 \pm 0,8$, kontrollkalvar: $1,6 \pm 1,5$; $t(10,483) = -0,83439$; $p = 0,42$).

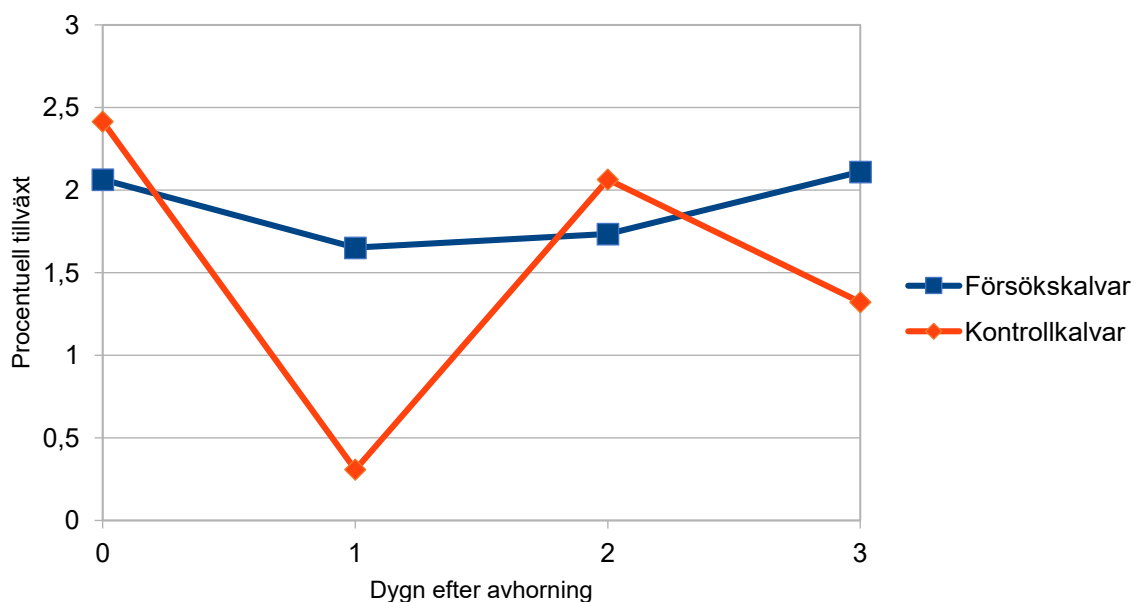
Hypotesprövning kunde ej visa några statistiskt signifikanta skillnader mellan försöks- och kontrollkalvarna i antal huvudnuggningar. Vid 48 timmar (försökskalvar: $0 \pm 0,0$, kontrollkalvar: $0,4 \pm 0,6$; $t(11) = -2,159$; $p = 0,054$) och 24 timmar (försökskalvar: $0,6 \pm 0,7$, kontrollkalvar: $1,2 \pm 0,8$; $t(18,498) = -1,789$; $p = 0,09$) var resultaten liknande. Vid 6 timmar sågs inte heller någon skillnad i antal huvudnuggningar per djur (försökskalvar: $1,1 \pm 1,0$, kontrollkalvar: $1,9 \pm 1,4$; $t(18,949) = -1,442$; $p = 0,17$).

Tillväxt

Deskriptiva resultat

Åldern och vikten vid avhorning var ungefär densamma för försökskalvarna (26 ± 10 dagar; 69 ± 15 kg) och kontrollkalvarna (31 ± 6 dagar; 67 ± 11 kg). Se Bilaga 6 för en sammanställning av djurens tillväxt.

Dygnet före avhorning förelåg ingen skillnad i procentuell tillväxt mellan försökskalvarna ($2,1 \pm 1,7$ %) och kontrollkalvarna ($2,4 \pm 0,8$ %). Generellt fluktuerade tillväxten kraftigt under de tre första dygnen efter avhorning (se Figur 6), speciellt för kontrollkalvarna. Dagen efter avhorning sjönk den procentuella tillväxten till 1,6 % hos försökskalvarna och 0,3 % hos kontrollkalvarna. Den genomsnittliga relativa tillväxten under de tre första dygnen efter avhorning var $1,8 \pm 0,5$ % för försökskalvarna och $1,2 \pm 0,5$ % för kontrollkalvarna.



Figur 6. Relativ tillväxt hos försöks- ($n=9$) och kontrollkalvar ($n=12$) i samband med avhorning. Diagrammet visar gruppernas genomsnittliga tillväxt jämfört med föregående mätning.

Hypotestestning

Welch's t-test med vald signifikansnivå $\alpha = 0,05$ kunde inte förkasta nollhypotesen att relativ tillväxt från avhorning till tre dagar efter avhorning var lika i grupperna (försökskalvar: $1,8 \pm 0,5$ %, kontrollkalvar: $1,2 \pm 0,5$ %: $t(9,367) = -1,237$; $p = 0,25$).

DISKUSSION

Sårläkning

Resultatet indikerar att det hos kalvar som hålls i grupp, med tillgång till sin mamma, under sårläkningsperioden sker en snabbare reduktion av sårdiametern under de fyra första veckorna efter avhorning. Skillnaden mellan grupperna kvarstod även när par med >1 mm skillnad i initial sårdiameter och par där kontrolldjuren hade oförändrad eller ökad sårdiameter fyra veckor efter avhorning uteslöts, vilket talar för att skillnaderna mellan grupperna inte berodde på olikheter i bränningsmetod mellan grupperna, eller på ett fåtal djur med avvikande sårläkning i kontrollgruppen. De deskriptiva bedömningar av avhorningssåren som gjordes från blindade fotografier stöder resultaten från sårmetningarna. Avsaknad av nekrotiskt material och inväxt av nytt epitel från sårkanterna observerades hos en större andel av försökskalvarna fyra veckor efter avhorningen, jämfört med kontrollkalvarna. Att resultaten från sårmetningarna och bedömningen av de blindade fotografierna överensstämmer talar för att resultaten från sårmetningarna inte var missvisande på grund av konfirmeringsbias.

Vilka fysiologiska faktorer som orsakade den snabbare initiala sårläkningen hos försökskalvarna har inte undersökts i den här studien. Tidigare studier har rapporterat att lägre halter av cirkulerade kortisol ger en snabbare sårläkning (Detillion *et al.*, 2004). Men flera studier har rapporterat att serum-kortisolhalterna ofta stiger kraftigt några timmar efter avhorning, då effekten av lokalbedövningen börjar avta (Faulkner & Weary, 2000; McMeekan *et al.*, 1998). Tidigare studier på hamster visat dock att umgänge med andra individer minskar mängden cirkulerande kortisol (Detillion *et al.*, 2004) och det är möjligt att den snabbare initiala sårläkningen hos försökskalvarna således berodde på lägre halter kortisol i blodet efter avhorningen än kontrollkalvarna. I denna studie var det inte möjligt att mäta cirkulerande kortisol under det första dygnet efter avhorning, då provtagning skulle ha interfererat med observation av smärtrelaterade beteenden. För att undersöka hur kortisol påverkar sårläkning efter avhorning skulle ytterligare studier behöva utföras, där serumkortisolnivåer efter avhorning relateras till tiden för re-epitelisering.

I tidigare studier på hamstrar (Detillion *et al.*, 2004) och råttor (Petersson *et al.*, 1999) sågs att oxytocin sänkte plasmanivån av kortisol och att hamstrar läkte sår snabbare om de tillfördes exogent oxytocin. I en studie med idisslare fick kalvar som diade högre nivåer av plasmaoxytocin jämfört med kalvar som drack mjölk från en hink (Lupoli *et al.*, 2001). Det är tänkbart att försökskalvarna i vår studie fick högre nivåer oxytocin än kontrollkalvarna på grund av att de fick dia och att det påverkade sårläkningen positivt. Andra studier på mjölkkor rapporterar att samma relationsmässiga beteenden sågs hos kalvar och kor som hölls ihop, men där diande förhindrats, jämfört med när kalven även tilläts dia (Johnsen *et al.*, 2015). Djuren tillbringade lika mycket tid i närheten av varandra, slickade och buffade i lika hög utsträckning på varandra och återförenades lika snabbt efter en daglig separation. Det är möjligt att även dessa kalvar hade förhöjda nivåer av oxytocin, trots att de inte diade. Ett intressant ämne för en framtida studie är hur sårläkning påverkas av ko-kalvkontakt när kalven inte tilläts dia. Det vore även intressant att jämföra oxytocinnivåer hos kalvar som vistas med sin mamma och som får dia, kalvar som har umgänge med mamman men utan att få dia och hos kalvar som får vara i grupp med andra kalvar från födseln.

I en studie av Hutson *et al.* (1979) beskrivs att vissa faktorer i saliv medför snabbare sårhäkning hos möss. I studier om sårhäkning, där gnagare använts som modelldjur, tillfogas sår vanligen på ryggen, där gnagarna ej kommer åt att slicka sig. Gnagare som hålls i grupp kan däremot få såren slickade av burkamrater. Pyter *et al.* (2014) beskriver putsning av andra individer som en möjlig orsak till att gruppållna möss i deras studie hade lägre bakteriehalt i såret över tid. I studien testades dock ej att förhindra att gruppållna möss slickade varandras sår. Avhorningssårens lokalisering i den här studien medförde att kalvarna inte kom åt att själva putsa sina sår. Försökskalvarna, som vistades tillsammans med sina mammor och andra ko-kalvpar, kunde däremot få sina sår putsade av andra djur. Detta medförde att såren hos försökskalvarna och kontrollkalvarna fick olika hygieniska förutsättningar, vilket skulle kunna vara en del av förklaringen till varför försökskalvarnas sår läkte snabbare. Det hade varit intressant att studera om inverkan av att kon slickar såret är positiv eller negativ, genom att förhindra möjlighet för kor och kalvar att slicka ett av avhorningssåren på varje individ.

De hygieniska förutsättningarna skilde sig även åt på så vis att försökskalvarna hade en större yta att vistas på, särskilt VMS ute som hade möjlighet till vistelse ute på bete. Det skulle kunna ha medfört en skillnad i externa faktorer för sårhäkning. Utifrån detta perspektiv hade det varit mer fördelaktigt att utforma studien så att försökskalvarna jämfördes med kontrollkalvar som hölls gruppvis men saknade kontakt med sina mammor, på en yta som motsvarande försökskalvarnas. Det är dock mycket ovanligt med betesgång för mjölkdrickande mjölkkraskalvar i Sverige, så att hålla kontrollkalvarna på bete skulle ha reducerat den externa validiteten i studiens frågeställning. Under de fyra veckor efter avhorning som sårhäkningen dokumenterades iaktogs inga tecken på sårinfektion i någon av grupperna, vilket tyder på att eventuella hygieniska skillnader mellan grupperna inte var av betydelse för risken för sekundärinfektion.

Vår studiedesign tillåter inte att specifikt utvärdera vilken effekt socialt umgänge med mamman hade på sårhäkning, då skillnader mellan försöks- och kontrollkalvarna kan ha berott på försökskalvarnas ökade möjlighet till sociala kontakter med andra kalvar och kor. För att mer specifikt kunna utvärdera effekten av mammans närvaro hade ko-kalvpar behövt hållas enskilda. Då det hade påverkat det pågående projektet som försökskalvarna ingick i var detta inte möjligt.

Avhorning av kalvarna skedde vid 2–6 veckors ålder. De äldre kalvarna behövde i vissa fall brännas över ett större område, varvid de fick ett större sår vilket kan ha påverkat sårhäkningen. Det fanns dock djur med mer omfattande brännsår bland både försöks- och kontrollkalvar. För att motverka att skillnad i ursprunglig sårstorlek påverkade resultaten, parades försöks- och kontrollkalvar med liknande ursprunglig sårstorlek i de statistiska analyserna.

Ett annat osäkerhetsmoment relaterat till sårstorlek var att mätningar av sår med skjutmått gjordes av tre olika personer. Dock mätte alla personer kalvar ur både försöks- och kontrollgruppen, vilket innebär att eventuella skillnader mellan olika personers mätningar bör ha varit likvärdiga i båda grupperna. Kalvarna var också vakna vid mätning och fotografering, vilket generellt reducerade mätprecisionen.

Vidare var kvaliteten på bilderna varierande. Överlag var den tillfredsställande, men ett fåtal bilder var något oskarpa och vissa sämre belysta. Detta skulle kunna vara förklaringen till det motsägelsefulla resultatet vid bedömning av sårgraferier från en vecka efter avhorning, där

33 % av försökskalvarna noterades ej ha nekrotiskt epitel i såren, medan siffran följande vecka var 0 %.

Smärtrelaterade beteenden

För frekvensen huvudskakningar per djur kunde inga skillnader mellan försöks- och kontrollkalvar påvisas när alla kalvar inkluderades i analyserna, men när VMS inne exkluderades var frekvensen signifikant högre hos kontrollkalvarna vid 6 och 48 timmar. Med VMS inne exkluderad var andelen kalvar som utförde huvudskakningar högre hos kontrollkalvarna vid samtliga mättillfällen. En intressant observation i den här studien är alltså att förekomst av flugor verkar påverka antal huvudskakningar som kalvarna utför vilket försvårar mätning av smärtrelaterade beteenden. Endast VMS inne avhornades i en miljö där det förekom rikligt med flugor, och i gruppen registrerades ett högre antal huvudskakningar än i övriga grupper. För att utvärdera om denna skillnad i huvudskakningar mellan VMS inne och VMS ute främst berodde på förekomst av flugor, och inte på individuella skillnader mellan kalvarna, jämfördes även skillnader i huvudskakningar mellan Kontroll 1 och 2. I de två kontrollgrupperna, som hölls i samma typ av miljö, var antal huvudskakningar per djur och andel djur som utförde huvudskakningar liknande. En metod som i framtida studier skulle kunna användas för att utvärdera effekten av flugförekomst på uppvisande av huvudskakningar, vore att applicera flugmedel på en del av de kalvar som avhornas i flugrik miljö och sedan utvärdera skillnader i uppvisande av huvudskakningar. I tidigare studier uppges huvudskakningar vara en bra indikator för smärta, och påverkan av förekomst av flugor diskuteras inte (Faulkner & Weary, 2000; McMeekan *et al.*, 1999; Sylvester *et al.*, 2004). Utifrån resultatet i vår studie bör framtida studier där huvudskakningar används som indikator för upplevd smärta kontrollera för förekomst av flugor.

Hos kontrollkalvarna iakttogs ett mönster av både högre frekvens uppvisade huvudguggningar och en större andel av djuren som uppvisade beteendet, vid alla observationstillfällen, jämfört med försökskalvarna även om det inte var en statistiskt signifikant skillnad. Det vore intressant att vidare studera samband mellan uppvisande av huvudguggningar och närvaro av kalvens mamma efter avhorning, med en större studiepopulation.

Beröring av smärtsamma områden kan ge minskad smärtsignalering (Kakigi & Shibasaki, 1992) och försökskalvarnas mammor sågs frekvent slicka avhorningssåren vid observationstillfället 6 timmar efter avhorning. Skillnader mellan grupperna i uppvisade smärtbeteenden efter avhorning skulle kunna bero på att kalvar som fick vistas med sin mamma upplevde minskad smärta efter avhorning genom taktil stimulans av mamman.

Jämförelser mellan denna och tidigare studier som utvärderat smärta efter avhorning har vissa begränsningar, då förfarandet kring mätning av smärtrelaterade beteenden ofta skiljer sig. Ofta hålls också kalvarna på olika sätt, och avhornas vid olika åldrar och med olika metoder. I den här studien utfördes avhorning enligt den vanligaste metoden i Sverige idag, då kalven får seder, lokalbedövning och smärtstillande läkemedel. I vissa studier som behandlades i litteraturöversikten avhornades kalvar enbart med lokalbedövning (Graf & Senn, 1999; Heinrich *et al.*, 2009; Stafford & Mellor, 2011). Dessa kalvar utförde smärtrelaterade beteenden tidigare efter avhorning än kalvarna i den här studien som vanligen sov vid observationer efter

2 och 4 timmar. I en studie av Faulkner och Weary (2000) sederades även kalvarna i samband med avhorning. Kalvarna i den studien fick en toppnotering av smärtbeteenden vid 6 timmar, vilket överensstämmer med resultaten i vår studie.

Precis som vid bedömning av sår läkning hade det vid bedömning av smärtrelaterade beteenden varit önskvärt att hålla försöks- och kontrollkalvar i en liknande miljö. I den här studien observerades smärtrelaterade beteenden hos kontrollkalvarna i högre grad än hos försökskalvarna (se Figur 2). Då försökskalvarna hade en mer berikande miljö, med möjlighet till umgänge med både mamman och med andra kor och kalvar, samt med ytor för lek, är det svårt att utvärdera vilken specifik inverkan mammans närvaro hade i sammanhanget. Det är tänkbart att försökskalvarna generellt var stimulerade i större utsträckning än kontrollkalvarna, och att de därför inte fäste lika stor uppmärksamhet på sin postoperativa smärta. Kontrollkalvarna, å andra sidan, hölls i ensamboxar med begränsad möjlighet till rörelse. Utan stimulans och miljöberikning fick de kanske ett större fokus på den postoperativa smärtan och utförde därför fler smärtrelaterade beteenden. Om kontrollkalvarna hållits i en miljö som var stimulerande på ett sätt som motsvarade försökskalvarnas, och de hade möjlighet till umgänge med andra kalvar, hade de kanske uppvisat ett lägre antal smärtrelaterade beteenden.

Tillväxt

Tidigare studier som jämfört tillväxt efter avhorning hos kalvar som smärtlindrats i olika utsträckning har kunnat uppmäta skillnader i tillväxt. Dock uppmättes inga skillnader i tillväxt mellan försöks- och kontrollkalvar dagarna efter avhorningen i den här studien. Alla kalvar i det här försöket erhöll samma analgesi, vilket bör ha gett samma påverkan på motiveringen att dricka mjölk och därmed liknande energiintag i alla grupper. Eventuella skillnader i smärtupplevelse som berodde på påverkan av om kalvarna hölls ensamma eller tillsammans med sin mamma kan ha varit alltför subtila för att påverka kalvarnas tillväxt i den här studien.

Det förelåg vissa skillnader i hur kalvarnas vikt mättes, vilket kan ha påverkat resultaten. Kalvarna vägdes på olika vågar och vid olika tidpunkter på dagen, och de hade potentiellt även konsumerat olika mycket mat innan vägning. Inför vägningarna skiljdes försökskalvarna från sin mamma tidigt på morgonen, oftast när de låg och vilade. Om de vilat under hela natten kan det ha varit länge sedan de senast diade. Detsamma gällde inför avhorning, då försökskalvarna separerades från sina mammor tidigt på morgonen, innan de vaknat. Efter avhorning var de trötta efter sedering och drack inte på flera timmar. Om de sovit länge innan de inför avhorning separerades från sina mammor kan det ha förflutit lång tid sedan de senaste diade. Kontrollkalvarna hade dock druckit sitt morgonmål inför samtliga vägningar. Olikheterna i födointag i samband med vägning och avhorning kan ha varit en förklaring till att inga skillnader sågs mellan grupperna.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Inom mjölkproduktion separeras oftast kalvarna från sina mammor redan några timmar efter födseln, men det görs försök med att låta kalvarna fortsätta vara tillsammans med sina mammor under en avsevärt längre tid. I den här studien undersökte vi om kalvars sårhäkning efter avhorning påverkas av att de får vara tillsammans med sina mammor och andra kor och kalvar. I studien ingick som jämförelse också kalvar som hölls i ensambox. Precis som de allra flesta andra kalvar avhornades kalvarna i vår studie när de var några veckor gamla. Vi kunde sedan se skillnader i hur väl såren läkte hos försökskalvarna som fick bo med sin mamma, och kontrollkalvarna som hölls ensamma i boxar: Efter fyra veckor hade försökskalvarnas sår i genomsnitt minskat med mer än 30 % medan kontrollkalvarnas sår bara hade minskat med runt 10 %. Som ett komplement bedömde vi också foton av såren, och även då noterades att försökskalvarnas sår såg mer läkta ut än kontrollkalvarnas 4 veckor efter avhorning.

Vi mätte också hur mycket smärta kalvarna visade genom att skaka på huvudet eller gnugga huvudet mot något. Försökskalvarna visade mindre av båda dessa beteenden men skillnaden för huvudgnuggningar var inte tillräckligt stor för att vara statistiskt säkerställd. Till viss del kan det bero på att ganska få kalvar ingick i studien.

Då det gäller tillväxt sågs i vår studie en viss minskning av tillväxten dagarna efter avhorningen som var störst hos kontrollkalvarna men varken minskningen i sig eller skillnaden mellan försöks- och kontrollkalvarna visade sig vara statistiskt säkerställd.

Hur hålls kor och kalvar i Sverige?

Inom svensk mjölkproduktion separeras oftast kalven från sin mamma snart efter födseln och flyttas till en ensambox där den lever under den första tiden. Separationen görs dels för att kalven annars skulle dricka en del av kons mjölk, dels för att det är lättare att undvika smittspridning när djuren hålls åtskilda. Men det naturliga för kon och hennes kalv är så klart att leva tillsammans – i det fria skulle en kalv dra från sin mamma i ungefär 11 månader.

I Sverige avhornas mjölkkorna rutinmässigt, för att skapa en säkrare miljö för djur och människor. Det görs vanligen på den unga kalven eftersom det är ett betydligt mindre ingrepp om det görs då, än på den vuxna kon. Avhorning innebär att själva hornanlaget tas bort så att kalven inte kan bilda horn när den blir äldre. Avhorningen är givetvis ett smärtsamt ingrepp med viss smärta även några dagar efteråt, men tidigare forskning har visat att det finns smärtlindring som hjälper. Eftersom djur inte kan kommunicera på samma sätt som människor kan det vara komplicerat att mäta smärta. Ett sätt är att mäta smärtbeteenden såsom huvudskakningar, öronviftningar och huvudgnuggningar. Det går också att mäta puls, blodtryck och nivån av olika hormoner i blodet, till exempel stresshormonet kortisol.

Vad säger annan forskning?

Eftersom det från olika håll kritiserats att kalvar separeras från sina mammor finns det flera pågående forskningsprojekt för att hitta alternativa sätt att hålla mjölkkor och deras kalvar. Intresset för att hålla kor och kalvar tillsammans ökar i Europa, så det är viktigt att se hur det påverkar djuren. Genom att kartlägga fördelar men även de utmaningar som finns med att hålla mjölkkor och kalvar ihop får vi bättre kunskaper om möjligheterna för en sådan djurhållning.

Våra resultat för sårhäkning går i linje med annan forskning om det. Forskare har till exempel kommit fram till att sår läker snabbare hos möss, råttor och hamstrar som får umgås med sina släktingar och kompisar, jämfört med om de hålls ensamma. Forskarna tror att den snabbare sårhäkningen kan ha att göra med att må-bra-hormonet oxytocin utsöndras när djur (precis som människor) umgås med andra som de gillar. Oxytocinet verkar sedan hämmande på stresshormonet kortisol, som motverkar sårhäkningen. Oxytocin utsöndras också hos ungar i samband med att de diar, hos flertalet djurslag.

Då det gäller smärtyttringar så har tidigare forskning visat att det finns beteenden som kan associeras till smärta i samband med avhorning. Kalvar som avhornats skakar mer på huvudet och gnuggar det mot sitt bakben eller föremål. De kan även vokalisera mer, äta mindre och leka mindre.

Andra forskare har sett en minskad tillväxt temporärt efter avhorningen och att detta skulle bero på smärta. Tidigare forskning har också visat att tillväxten generellt är högre hos kalvar som går med sin mamma än hos kalvar som hålls ensamma. Våra resultat är inte i linje med denna forskning, troligen delvis beroende på att vi studerade ganska få kalvar och det fanns olikheter i upplägg av studierna.

Hur gjorde vi studien?

I den här studien undersökte vi 9 försökskalvar som gick med sina mammor fram till fyra månaders ålder. Som kontrollgrupp hade vi 13 kalvar som hade separerats från sina mammor vid födseln. För att bedöma hur bra avhorningssåren läkte, mätte vi hur stora de var precis efter avhorningen och jämförde sedan hur mycket de minskade per vecka under fyra veckor.

Vi tog också bilder på såren varje vecka, totalt 220 stycken. Varje bild fick ett kodnamn (så att den som tittade på bilden inte skulle veta vilken kalv det var), och sedan bedömde vi hur såren såg ut och läkte på alla bilder.

Hur mycket smärta kalvarna verkade uppleva efter avhorningen mätte vi genom att titta på hur mycket de skakade på huvudet, eller gnuggade huvudet mot någonting i närmiljön. Vi registrerade sådana beteenden vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorningen.

För att undersöka om tillväxten minskade efter avhorningen och om det fanns någon skillnad mellan grupperna så vägde vi också kalvarna dagligen, dagen före och några dagar efter avhorningen.

Vad ska vi använda det här till?

Resultaten i den här studien är viktiga på flera sätt. Att kalvar som hålls med sin mamma läker bättre efter avhorningen och möjligen också upplever mindre smärta kan innebära att de har fördelar också i andra situationer när de får sår, skador eller sjukdomar. Vi vet från annan forskning att det i flera avseenden är bättre för djurvälståndet att inte separera kalvar och deras mammor. Det finns också ekonomiska fördelar med detta genom bättre tillväxt hos kalvarna och minskat arbete då de inte behöver mjölkutfodras manuellt. Ju fler fördelar vi upptäcker med att låta kalvar få leva med sina mammor desto större är chansen att rutinerna ändras. Att sår

läker bättre om man har socialt umgänge kan också vara något att tänka på inom sjukvården, till exempel när det kommer till sårvård efter en operation eller behandling av svårläkta sår.

REFERENSER

- Adcock, S. J. J., Vieira, S. K., Alvarez, L., & Tucker, C. B. (2019). Iron and laterality effects on healing of cautery disbudding wounds in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *102*(11), 10163–10172. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16121>
- Anderberg, L., Loberg, J., Sjaunja, K. S., Lidfors, L., & Berg, C. (2001). Mjölk till kalvar på ekologiska gårdar. *Fakta Jordbruk*, 4.
- Bar-Peled, U., Robinzon, B., Maltz, E., Tagari, H., Folman, Y., Bruckental, I., Voet, H., Gacitua, H., Lehrer, A. R. (1997). Increased weight gain and effects on production parameters of Holstein heifer calves that were allowed to suckle from birth to six weeks of age. *Journal of Dairy Science*, *80*(10), 2523–2528. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76205-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76205-2)
- Björkstrand, E., & Uvnäs-Moberg, K. (1996). Central oxytocin increases food intake and daily weight gain in rats. *Physiology & Behavior*, *59*(4), 947–952. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02179-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02179-5)
- Boandl, K. E., Wohlt, J. E., & Carsia, R. V. (1989). Effects of handling, administration of a local anesthetic, and electrical dehorning on plasma cortisol in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, *72*(8), 2193–2197. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79345-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79345-0)
- Broom, D. M. (1982). Husbandry methods leading to inadequate social and maternal behaviour in cattle. I W. Bessei (Red.), *Disturbed Behaviour in Farm Animals: Seminar in the EEC program of Coordination of Research on Animal Welfare at the University of Hohenheim 1981* (s. 42–50).
- Detillion, C. E., Craft, T. K. S., Glasper, E. R., Prendergast, B. J., & DeVries, A. C. (2004). Social facilitation of wound healing. *Psychoneuroendocrinology*, *29*(8), 1004–1011. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2003.10.003>
- Dougherty, C. T., Knapp, F. W., Burrus, P. B., Willis, D. C., & Bradley, N. W. (1993). Face flies (*Musca autumnalis* De Geer) and the behavior of grazing beef cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, *35*(4), 313–326. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(93\)90083-2](https://doi.org/10.1016/0168-1591(93)90083-2)
- Ellingsen-Dalskau, K. (2016). *The Impact of Management on Dairy Calf Welfare*. Diss. Oslo: Veterinærinstituttet.
- Elsohaby, I., McClure, J. T., Cameron, M., Heider, L. C., & Keefe, G. P. (2017). Rapid assessment of bovine colostrum quality: How reliable are transmission infrared spectroscopy and digital and optical refractometers? *Journal of Dairy Science*, *100*(2), 1427–1435. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11824>
- Engeland, C. G., Pyter, L., McKenzie, C., & Yang, L. (2012). Novel mechanisms by which social isolation delays dermal wound healing in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, *26*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.07.097>
- European Commission. (2015). *Special Eurobarometer 442: Attitudes of Europeans towards Animal Welfare*. Hämtad från <https://ec.europa.eu/COMMFrontOffice/publicopinion/index.cfm/Survey/getSurveyDetail/instruments/SPECIAL/surveyKy/2096>
- Faulkner, P. M., & Weary, D. M. (2000). Reducing pain after dehorning in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *83*(9), 2037–2041. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75084-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75084-3)
- Flower, F. C., & Weary, D. M. (2001). Effects of early separation on the dairy cow and calf: 2. Separation at 1 day and 2 weeks after birth. *Applied Animal Behaviour Science*, *70*(4), 275–284. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(00\)00164-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00164-7)

- Fröberg, S., Gratte, E., Svennersten-Sjaunja, K., Olsson, I., Berg, C., Orihuela, A., Galina, C. S., García, B., Lidfors, L. (2008). Effect of suckling ('restricted suckling') on dairy cows' udder health and milk let-down and their calves' weight gain, feed intake and behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, *113*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.12.001>
- Funkquist, B., Obel, N., Schantz, B., Broström, H., & Adehed, S. (2012). *Kompendium i allmän kirurgi*. Uppsala: Institutionen för kliniska vetenskaper, Sveriges lantbruksuniversitet.
- Graf, B., & Senn, M. (1999). Behavioural and physiological responses of calves to dehorning by heat cauterization with or without local anaesthesia. *Applied Animal Behaviour Science*, *62*(2), 153–171. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(98\)00218-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(98)00218-4)
- Griffin, J. F. T. (1989). Stress and immunity: A unifying concept. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *20*(3), 263–312. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(89\)90005-6](https://doi.org/10.1016/0165-2427(89)90005-6)
- Grøndahl, A., Skancke, E., Mejdell, C., & Jansen, J. (2007). Growth rate, health and welfare in a dairy herd with natural suckling until 6–8 weeks of age: A case report. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *49*(1). <https://doi.org/10.1186/1751-0147-49-16>
- Harris, G. W. (1948). Neural control of the pituitary gland. *Physiological Reviews*, *28*(2), 139–179. <https://doi.org/10.1152/physrev.1948.28.2.139>
- Heinrich, A., Duffield, T. F., Lissemore, K. D., & Millman, S. T. (2010). The effect of meloxicam on behavior and pain sensitivity of dairy calves following cautery dehorning with a local anesthetic. *Journal of Dairy Science*, *93*(6), 2450–2457. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2813>
- Heinrich, A., Duffield, T. F., Lissemore, K. D., Squires, E. J., & Millman, S. T. (2009). The impact of meloxicam on postsurgical stress associated with cautery dehorning. *Journal of Dairy Science*, *92*(2), 540–547. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1424>
- Hutson, J. M., Niall, M., Evans, D., & Fowler, R. (1979). Effect of salivary glands on wound contraction in mice. *Nature*, *279*(5716), 793–795. <https://doi.org/10.1038/279793a0>
- Hübner, G., Brauchle, M., Smola, H., Madlener, M., Fässler, R., & Werner, S. (1996). Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice. *Cytokine*, *8*(7), 548–556. <https://doi.org/10.1006/cyto.1996.0074>
- Johnsen, J. F., de Passille, A. M., Mejdell, C. M., Bøe, K. E., Grøndahl, A. M., Beaver, A., Rushen, J., Weary, D. M. (2015). The effect of nursing on the cow–calf bond. *Applied Animal Behaviour Science*, *163*(C), 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.12.003>
- Johnsen, J. F., Zipp, K. A., Kälber, T., Passillé, A. M. de, Knierim, U., Barth, K., & Mejdell, C. M. (2016). Is rearing calves with the dam a feasible option for dairy farms? - Current and future research. *Applied Animal Behaviour Science*, *181*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.11.011>
- Jonsson, K. (2019). *Inventering av uppfödningssystem som tillåter ko-kalvkontakt i svenska mjölkbesättningar*. Sveriges lantbruksuniversitet. Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Veterinärprogrammet (Examensarbete)
- Kakigi, R., & Shibasaki, H. (1992). Mechanisms of pain relief by vibration and movement. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *55*(4), 282–286.
- Kalvpportalen (2019). *Tillväxt och vägning*. Tillgänglig: <http://www.kalvpportalen.se/skoetsel/tillvaext-hullbedoemning/tillvaext-och-vaegning/> [2019-11-16]

- Krohn, C. C. (2001). Effects of different suckling systems on milk production, udder health, reproduction, calf growth and some behavioural aspects in high producing dairy cows—A review. *Applied Animal Behaviour Science*, *72*(3), 271–280. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00117-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00117-4)
- Lidfors, L. (1991). *Nötkreaturens beteende* [Undervisningskompendium]. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet
- Lupoli, B., Johansson, B., Uvnäs-Moberg, K., & Svennersten-Sjaunja, K. (2001). Effect of suckling on the release of oxytocin, prolactin, cortisol, gastrin, cholecystokinin, somatostatin and insulin in dairy cows and their calves. *Journal of Dairy Research*, *68*(2), 175–187. <https://doi.org/10.1017/S0022029901004721>
- McMeekan, C. M., Stafford, K. J., Mellor, D. J., Bruce, R. A., Ward, R. N., & Gregory, N. G. (1998). Effects of regional analgesia and/or a non-steroidal anti-inflammatory analgesic on the acute cortisol response to dehorning in calves. *Research in Veterinary Science*, *64*(2), 147–150. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(98\)90010-8](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(98)90010-8)
- McMeekan, C., Stafford, K. J., Mellor, D. J., Bruce, R. A., Ward, R. N., & Gregory, N. (1999). Effects of a local anaesthetic and a non-steroidal anti-inflammatory analgesic on the behavioural responses of calves to dehorning. *New Zealand Veterinary Journal*, *47*(3), 92–96. <https://doi.org/10.1080/00480169.1999.36120>
- Mendoza, A., Cavestany, D., Roig, G., Ariztia, J., Pereira, C., La Manna, A., Contreras, D. A., Galina, C. S. (2010). Effect of restricted suckling on milk yield, composition and flow, udder health, and postpartum anoestrus in grazing Holstein cows. *Livestock Science*, *127*(1), 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.08.006>
- Morisse, J. P., Cotte, J. P., & Huonnic, D. (1995). Effect of dehorning on behaviour and plasma cortisol responses in young calves. *Applied Animal Behaviour Science*, *43*(4), 239–247. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(95\)00569-E](https://doi.org/10.1016/0168-1591(95)00569-E)
- Neave, H. W., Daros, R. R., Costa, J. H. C., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2013). Pain and pessimism: Dairy calves exhibit negative judgement bias following hot-iron disbudding. *PLoS One*, *8*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080556>
- Petersson, M., Hulting, A.-L., & Uvnäs-Moberg, K. (1999). Oxytocin causes a sustained decrease in plasma levels of corticosterone in rats. *Neuroscience Letters*, *264*(1–3), 41–44. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(99\)00159-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(99)00159-7)
- Pyter, L. M., Yang, L., da Rocha, J. M., & Engeland, C. G. (2014). The effects of social isolation on wound healing mechanisms in female mice. *Physiology & Behavior*, *127*, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.01.008>
- Reinhardt, C., Reinhardt, A., & Reinhardt, V. (1986). Social behaviour and reproductive performance in semi-wild Scottish Highland cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, *15*(2), 125–136. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(86\)90058-4](https://doi.org/10.1016/0168-1591(86)90058-4)
- SFS 2019:66. *Djurskyddsförordning*. Stockholm: Näringsdepartementet.
- Stafford, K. J., & Mellor, D. J. (2011). Addressing the pain associated with disbudding and dehorning in cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, *135*(3), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.10.018>

- Sylvester, S., Stafford, K., Mellor, D., Bruce, R., & Ward, R. (1998). Acute cortisol responses of calves to four methods of dehorning by amputation. *Australian Veterinary Journal*, 76(2), 123–126. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1998.tb14544.x>
- Sylvester, S., Stafford, K., Mellor, D., Bruce, R., & Ward, R. (2004). Behavioural responses of calves to amputation dehorning with and without local anaesthesia. *Australian Veterinary Journal*, 82(11), 697–700. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2004.tb12162.x>
- Vitalo, A. G., Gorantla, S., Fricchione, J. G., Scichilone, J. M., Camacho, J., Niemi, S. M., Denninger, J. W., Benson, H., Yarmush, M. L., Levine, J. B. (2012). Environmental enrichment with nesting material accelerates wound healing in isolation-reared rats. *Behavioural Brain Research*, 226(2), 606–612. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.09.038>
- Wagner, K., Seitner, D., Barth, K., Palme, R., Futschik, A., & Waiblinger, S. (2015). Effects of mother versus artificial rearing during the first 12 weeks of life on challenge responses of dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 164, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.12.010>
- Weaver, A. D. (1986). *Bovine Surgery and Lameness*. Oxford: Blackwell Scientific.

BILAGA 1. SAMMANSTÄLLNING AV PARVIS MATCHADE FÖRSÖKS- OCH KONTROLLKALVAR VID ANALYSER AV SÅRLÄKNING

Parade t-test användes för att jämföra skillnader mellan försöks- och kontrollkalvar i genomsnittlig förändring av sårdiameter 4 veckor efter avhorning. I huvudtexten rapporteras resultaten från testet då alla par inkluderades. I tillägg gjordes fyra kompletterande tester: I ett test uteslöts par 5, där skillnaden i ursprunglig sårdiameter var större än 1 mm. I ett annat test uteslöts par 6 och 7, där kontrolldjuren efter fyra veckor hade en sårdiameter som var större än ursprungssåret. I ett tredje test uteslöts både par med 1 mm skillnad i ursprunglig sårdiameter och par med växande sårdiameter. Slutligen uteslöts i ett test par 1, 6 och 7, där försöksdjuren hade en låg koncentration av totalprotein i serum (52–54 g/l) 2–7 dagar efter födseln. Tabellen nedan visar de par som ingick när sårläkning analyserades.

Par	Kalv	Kön	Vikt vid avhorning	Ålder vid avhorning	Sårdiameter vid avhorning ¹
1	2258 ²	♀	79 kg	30 dagar	32 mm
	8214	♂	70 kg	27 dagar	31 mm
2	2259	♀	80 kg	28 dagar	22 mm
	2269	♀	58 kg	36 dagar	22 mm
3	8198	♂	83 kg	28 dagar	22 mm
	2272	♀	72 kg	31 dagar	23 mm
4	2262	♀	50 kg	16 dagar	21 mm
	2275	♀	74 kg	28 dagar	21 mm
5	8201	♂	61 kg	18 dagar	27 mm
	8207	♂	65 kg	28 dagar	29 mm
6	2261	♀	73 kg	36 dagar	17 mm
	8205	♂	77 kg	31 dagar	17 mm
7	2268	♀	63 kg	15 dagar	16 mm
	8206	♂	61 kg	29 dagar	17 mm
8	2263	♀	69 kg	26 dagar	16 mm
	2267	♀	53 kg	29 dagar	17 mm
9	8204	♂	66 kg	24 dagar	19 mm
	2264	♀	67 kg	35 dagar	18 mm

¹Medelvärde för höger och vänster hornanlag.

²Försöksdjur i **fetstil**.

BILAGA 2. GRUPPERNAS FÖRÄNDRING AV SÅRDIAMETER EFTER AVHORNING

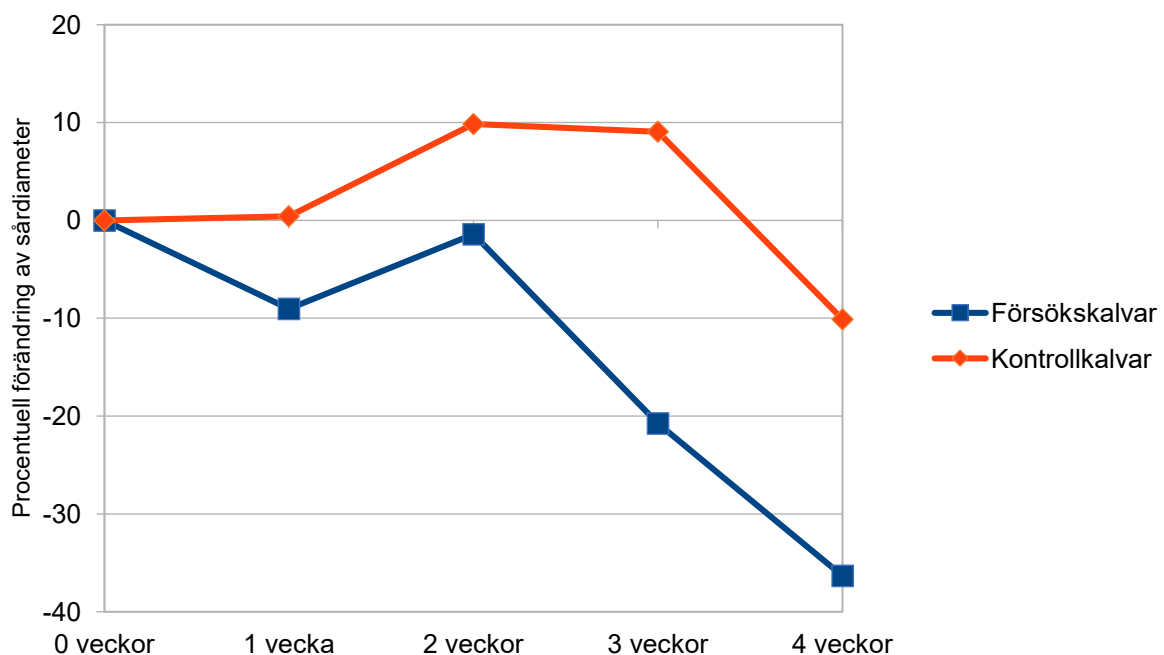
För samtliga jämförelser följde sårhäkningsgraden hos försöks- och kontrollkalvar samma trend. Figurerna nedan visar hur genomsnittlig sår diameter förändrades hos försöks- och kontrollkalvar, med olika par exkluderade ur jämförelsen.

Det fanns ett par med 2 mm skillnad i ursprunglig sår diameter, jämfört med maximalt 1 mm hos övriga par. Figur 1 illustrerar en jämförelse av medelvärde för sårhäkning från avhorning till fyra veckor efter avhorning utan detta par.

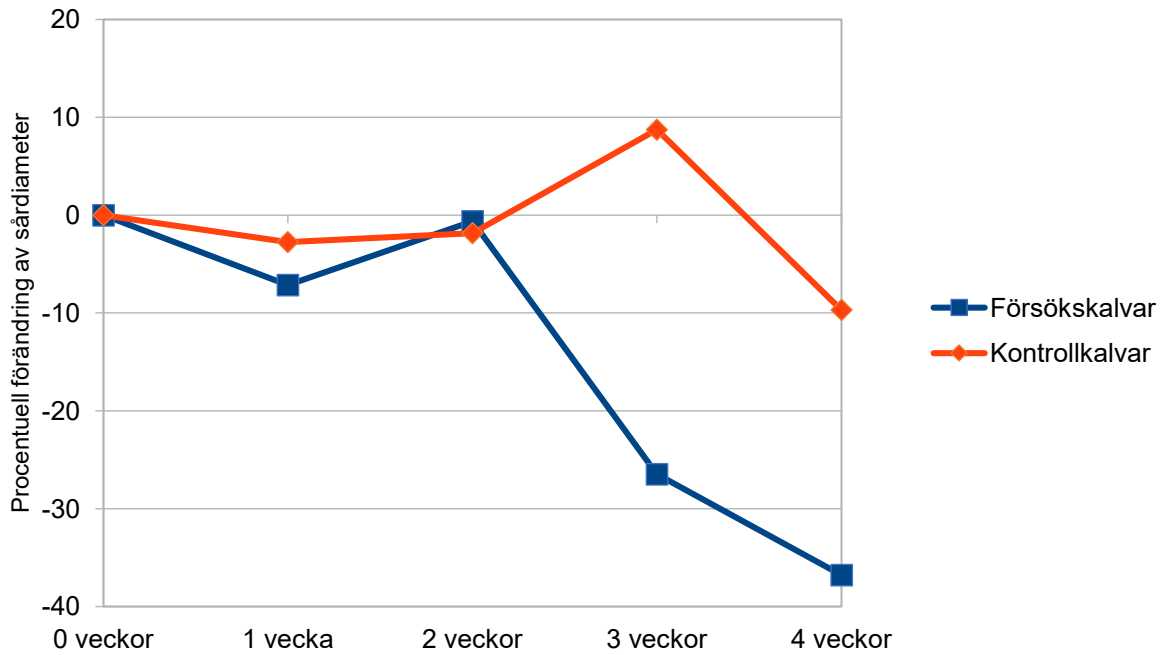
Vidare fanns i två av paren individer med större sår diameter efter 4 veckor, jämfört med ursprunglig sår diameter. I Figur 2 illustreras en jämförelse av medelvärde för sårhäkning från avhorning till fyra veckor efter avhorning där paren med dessa individer exkluderats.

I Figur 3 illustreras en jämförelse av medelvärde för sårhäkning från avhorning till fyra veckor efter avhorning där både par med 2 mm skillnad i ursprunglig sår diameter och par med växande sår diameter exkluderats.

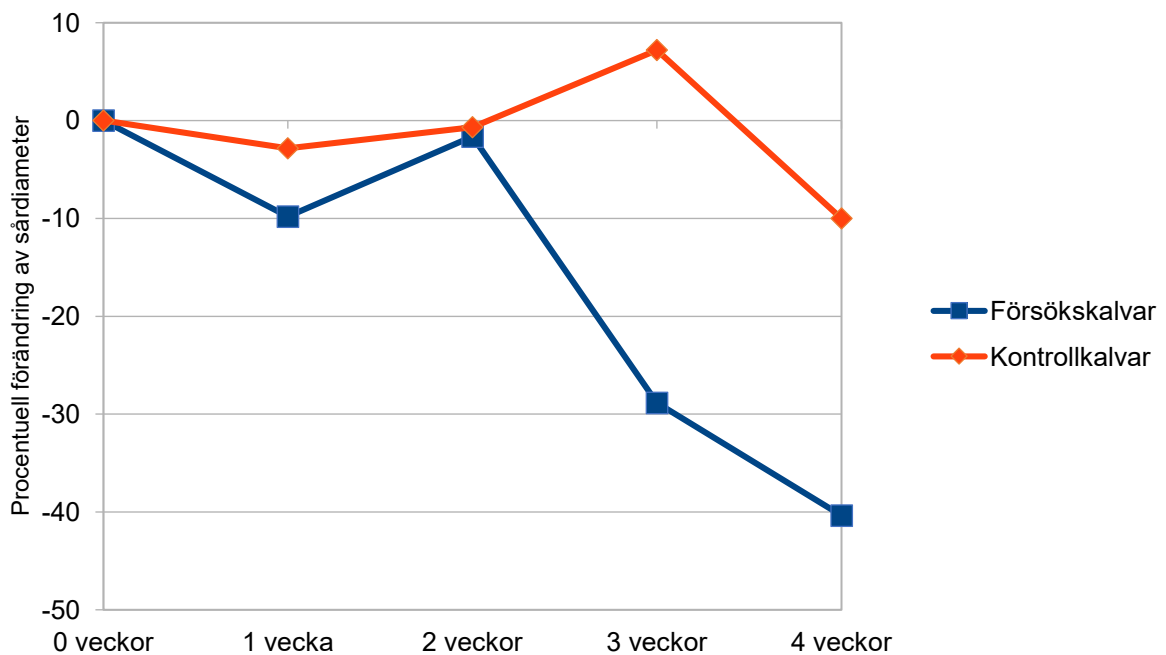
Figur 4 visar en jämförelse av medelvärde för sårhäkning från avhorning till fyra veckor efter avhorning där kalvar som hade suboptimala nivåer (50–55 g/l) av totalprotein i serum exkluderats.



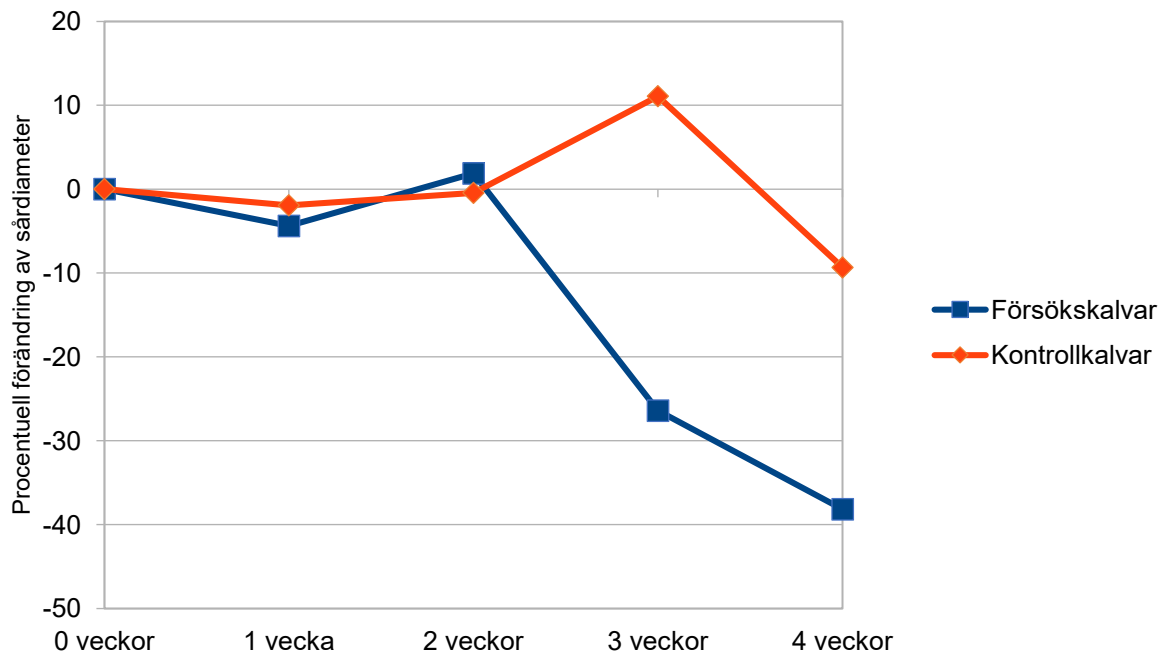
Figur 1. Medelvärde för sårhäkning hos försöks- ($n = 8$) och kontrollkalvar ($n = 8$) från avhorning till fyra veckor efter avhorning. Mätningar en gång per vecka. Par med skillnad i ursprunglig sår diameter större än 1 mm uteslutet.



Figur 2. Medelvärde för sårhäkning hos försöks- ($n = 7$) och kontrollkalvar ($n = 7$) från avhorning till fyra veckor efter avhorning. Mätningar en gång per vecka. Par med individer som efter fyra veckor hade större sår diameter än den ursprungliga uteslutna.



Figur 3. Medelvärde för sårhäkning hos försöks- ($n = 6$) och kontrollkalvar ($n = 6$) från avhorning till fyra veckor efter avhorning. Mätningar en gång per vecka. Par med skillnad i ursprunglig sår diameter större än 1 mm, samt par med individer som efter fyra veckor hade större sår diameter än den ursprungliga uteslutna.



Figur 4. Medelvärde för sårhäkning hos försöks- ($n = 6$) och kontrollkalvar ($n = 6$) från avhorning till fyra veckor efter avhorning. Mätningar en gång per vecka. Par med individer med suboptimala nivåer (50–55 g/l) av totalprotein i serum uteslutna.

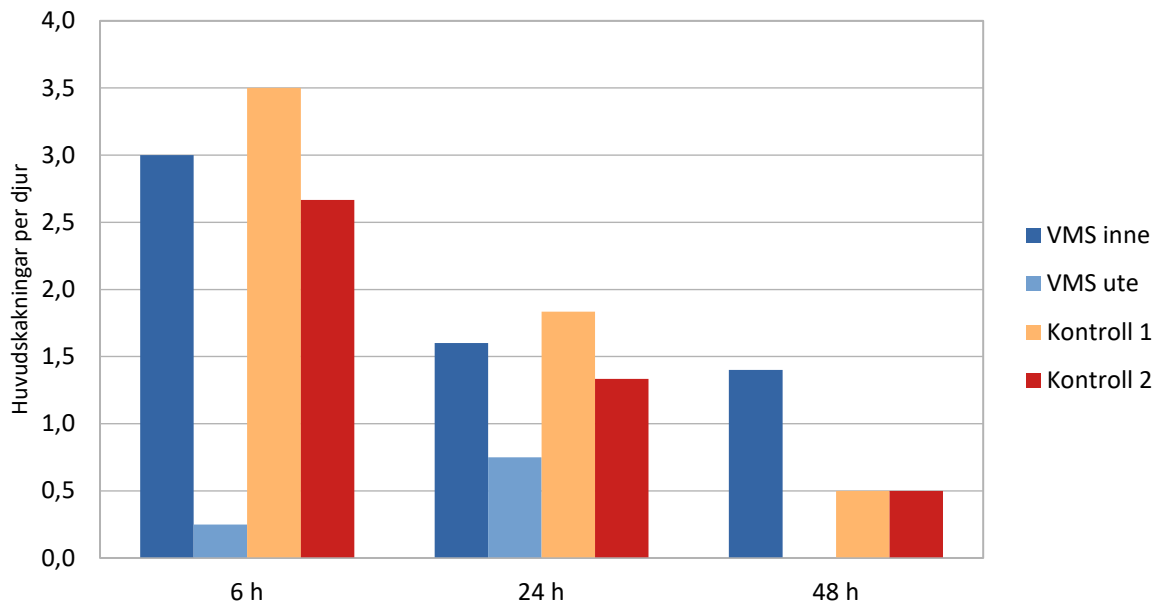
BILAGA 3. INDIVIDUELL FÖRÄNDRING AV SÅRDIAMETER EFTER AVHORNING

Tabellen nedan visar individuell förändring av sårdiameter fyra veckor efter avhorning jämfört med den ursprungliga sårdiametern.

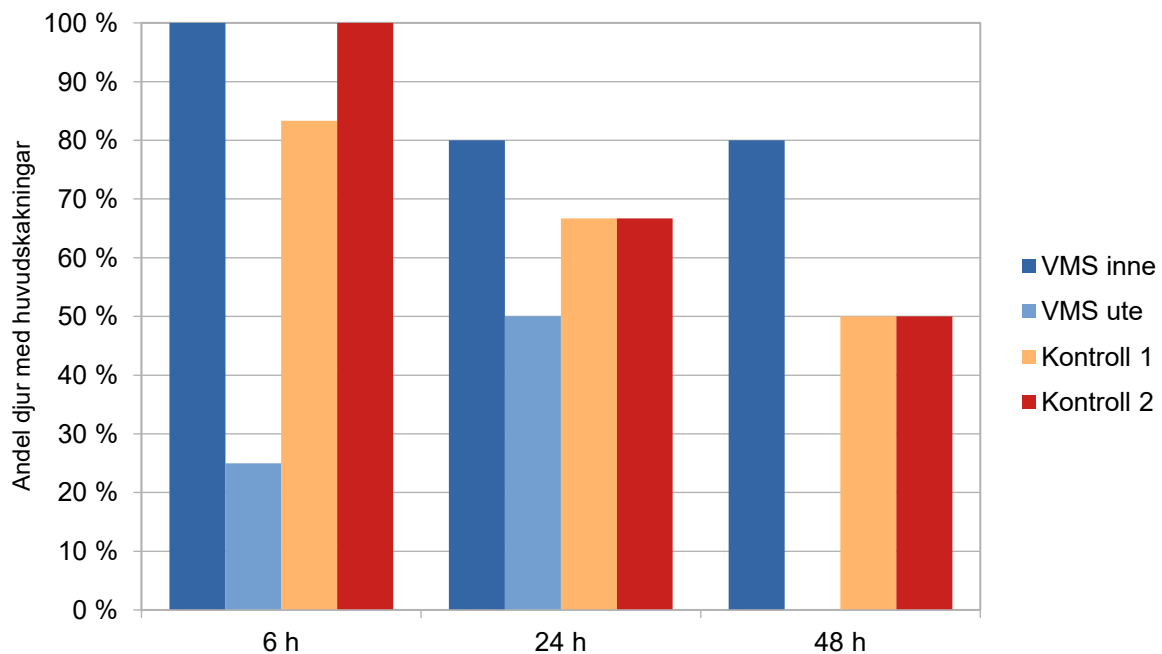
Individ	Förändring i procent
<i>Försökskalvar</i>	
2258	-28,6
2259	-46,5
8198	-51,8
2262	-40,5
8201	-15,5
2261	-4,9
2268	-43,5
2263	-29,1
8204	-45,7
<i>Kontrollkalvar</i>	
2264	-12,6
8205	1,5
2267	-5,7
8206	-22,2
8207	-7,8
2269	-20,7
2272	7,7
2275	-16,8
8214	-12,0

BILAGA 4. JÄMFÖRELSE AV HUVUDSKAKNINGAR I DE FYRA GRUPPERNA

Figur 1 visar genomsnittligt antal huvudskakningar per djur i de fyra grupperna. Figur 2 visar andel kalvar som utförde huvudskakningar i de fyra grupperna.



Figur 1. Genomsnittligt antal huvudskakningar per djur hos VMS inne ($n = 5$), VMS ute ($n = 4$), Kontroll 1 ($n = 6$) och Kontroll 2 ($n = 6$) vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning. Varje observationstillfälle varade 3 minuter per kalv.



Figur 2. Andel djur i VMS inne ($n = 5$), VMS ute ($n = 4$), Kontroll 1 ($n = 6$) och Kontroll 2 ($n = 6$) som uppvisade huvudskakningar vid 6, 24 och 48 timmar efter avhorning. Varje observationstillfälle varade 3 minuter per kalv.

BILAGA 5. SAMMANSTÄLLNING AV SMÄRTBETEENDEN

Tabellen visar antal huvudskakningar och antal huvudgnuggningar som individuella kalvar utförde under en observation (3 minuter per kalv och observationstillfälle). Huvudgnuggningar definierades som de gånger kalven gnuggade huvudet mot inredningen, mot andra individer, eller mot sitt eget bakben. Huvudskakningar definierades som de gånger huvudet vickades i sidled upprepade gånger (>3) i snabb takt. Antal huvudskakningar och huvudgnuggningar mättes vid 2, 4, 6, 24 och 48 timmar efter avhorning.

Individ	Huvudskakningar					Huvudgnuggningar				
	2 h	4 h	6 h	24 h	48 h	2 h	4 h	6 h	24 h	48 h
<i>VMS inne</i>										
2258	s	s	3	2	2	s	s	1	0	0
2259	s	s	3	2	2	s	s	2	0	0
8198	s	s	5	2	1	s	s	1	0	0
2262	s	s	2	2	0	s	s	0	0	0
8201	s	s	2	0	2	s	s	2	2	0
<i>VMS ute</i>										
2261	s	s	0	0	0	s	s	1	1	0
2268	s	s	1	2	0	s	s	0	0	0
2263	s	s	0	0	0	s	s	3	1	0
8204	s	s	0	1	0	s	s	0	1	0
<i>Kontroll 1</i>										
2264	s	0	4	0	0	s	2	1	0	0
2265	s	s	0	1	1	s	s	0	1	0
2266	s	2	2	2	0	s	2	2	2	1
8205	s	2	3	3	1	s	1	2	2	1
2267	2	4	6	5	1	0	0	4	1	0
8206	s	s	6	0	0	s	s	5	0	0
8207	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s
<i>Kontroll 2</i>										
2208	s	s	1	3	1	s	s	2	2	0
2269	s	s	3	2	0	s	s	3	1	1
2272	s	s	2	1	0	s	s	1	2	0
8211	s	s	5	2	1	s	s	0	2	0
2275	s	s	3	0	1	s	s	1	0	2
8214	s	s	2	0	0	s	s	2	1	0

s = sov vid observationstillfället

BILAGA 6. SAMMANSTÄLLNING AV PROCENTUELL DAGLIG TILLVÄXT

Tabellen nedan visar individuell procentuell tillväxt hos försöks- och kontrollkalvar. Vikten jämfördes med föregående mätning och gav en procentuell tillväxt per dygn. De fyra kolumnerna visar dagen för avhorning ("d 0") och efterföljande tre dagar.

Individ	Viktökning i procent jämfört med föregående mätning			
	d 0	d 1	d 2	d 3
<i>VMS inne</i>				
2258	1,8	-2,8	5,2	2,7
2259	0,3	3,5	1,5	1,0
8198	5,3	2,2	0,2	3,3
2262	-0,4	2,0	3,1	3,0
8201	1,7	3,6	1,3	1,6
<i>VMS ute</i>				
2261	0,5	1,8	0,7	4,4
2268	2,9	0,6	3,3	0,5
2263	2,8	2,2	1,4	1,4
8204	3,6	1,8	-1,0	1,2
<i>Kontroll 1</i>				
2264	2,9	1,5	3,4	1,4
2265	2,1	-1,9	2,3	2,1
2266	1,7	-0,2	2,9	3,0
8205	2,4	0,6	1,5	2,2
2267	3,5	1,1	0,9	2,0
8206	2,5	0,8	1,6	1,5
8207	3,2	1,2	2,0	0,4
<i>Kontroll 2</i>				
2208	2,2	1,0	1,3	1,2
2269	2,0	4,2	1,2	-0,2
2272	1,3	-3,5	3,9	1,0
8211	3,4	-1,1	2,1	1,7
2275	1,1	-1,1	1,2	1,2
8214	3,1	1,3	2,5	-0,3